

**METHOD FOR INTRODUCING IMIDE GROUP INTO HETEROCYCLIC COMPOUND**

Patent Number: JP6329560

Publication date: 1994-11-29

Inventor(s): ISHIDO RYOJI; others: 01

Applicant(s):: TOKYO YATSUKA UNIV

Requested  
Patent: ☐ JP6329560Application  
Number: JP19930120086 19930521Priority Number  
(s):IPC Classification: C07B43/06 ; C07D239/54 ; C07D403/04 ; C07D473/34 ; C07H19/067 ; C07H19/073 ;  
C07H19/167 ; C07H19/173

EC Classification:

Equivalents:

**Abstract**

**PURPOSE:** To effectively introduce imide group to a heterocyclic compound by reacting a compound having a heterocycle with a succinic imide derivative or a phthalic imide derivative.

**CONSTITUTION:** A compound having a heterocycle to which a tetrazolyl group or nitrotriazolyl group is bonded reacts with a succinic imide derivative or a phthalimide derivative, as necessary, in the presence of a base (e.g. azabicyclo[5,4,0]-undec-7-ene), as necessary in a solvent (e.g. methylene chloride) at ambient temperature to 40 deg.C. The base is used in an amount of 1-5 equivalent based on 1 equivalent heterocyclic compound. Since introduction of amino group on the outside of the nucleotide ring is carried out in high yield, this method is suitable as a method for introducing  $<15>N$  to the amino group on the outside of the ring. This method is excellent in shelf life of labeled compound and operating property of reaction and an amount of a labeled compound used for the reaction can be minimized, because the labeled compound used ( $<15>N$  succinic imide,  $<15>N$  phthalic imide, etc.) is solid at normal temperature.

Data supplied from the esp@cenet database - I2

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平 6 - 3 2 9 5 6 0

(43) 公開日 平成 6 年 (1994) 11 月 29 日

(51) Int. Cl. <sup>5</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C07B 43/06		7419-4H		
C07D239/54				
403/04	207	7602-4C		
	209	7602-4C		
473/34	351			

審査請求 未請求 請求項の数 7 O L (全 20 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願平 5 - 1 2 0 0 8 6

(22) 出願日 平成 5 年 (1993) 5 月 21 日

特許法第 30 条第 1 項適用申請有り 平成 5 年 3 月 5 日  
、日本薬学会発行の「日本薬学会第 113 年会講演要旨  
集」に発表

(71) 出願人 592068200

学校法人東京薬科大学

東京都八王子市堀之内 1432-1

(72) 発明者 石戸 良治

東京都八王子市堀之内 1432-1 東京  
薬科大学内

(72) 発明者 釜池 和大

東京都八王子市堀之内 1432-1 東京  
薬科大学内

(74) 代理人 弁理士 長谷川 芳樹 (外 4 名)

(54) 【発明の名称】 複素環化合物へのイミド基の導入法

(57) 【要約】

【構成】 テトラゾリル基又はニトロトリアゾリル基が結合した複素環を有する化合物に、塩基の存在下で、スクシンイミド誘導体又はフタルイミド誘導体を反応させて、上記複素環化合物へスクシンイミド基又はフタルイミドイミド基を導入する。

【効果】 環外アミノ基の導入を高収率で行なうことができるため、ヌクレオシド環外アミノ基への<sup>15</sup>N 導入法として好適に用いられる。この<sup>15</sup>N 導入法によれば、用いるラベル化合物 ([<sup>15</sup>N]スクシンイミド、[<sup>15</sup>N]フタルイミド等) が常温で固体であるため、ラベル化合物の保存性および反応の操作性に優れ、また反応に用いるラベル化合物の当量数も必要最小限とすることができる。

## 【特許請求の範囲】

【請求項 1】 テトラゾリル基又はニトロトリアゾリル基が結合した複素環を有する化合物に、塩基の存在下で、スクシンイミド誘導体又はフタルイミド誘導体を反応させることを特徴とする複素環化合物へのイミド基の導入法。

【請求項 2】 前記複素環が、ピリミジン骨格を有する複素環である請求項 1 記載の複素環化合物へのイミド基の導入法。

【請求項 3】 前記複素環が、プリン骨格を有する複素環である請求項 1 記載の複素環化合物へのイミド基の導入法。

【請求項 4】 前記複素環を有する化合物が、更にグリコシル基を有する請求項 1 記載の複素環化合物へのイミド基の導入法。

【請求項 5】 前記複素環を有する化合物がヌクレオシドである請求項 4 記載の複素環化合物へのイミド基の導入法。

【請求項 6】 前記塩基がジアザビシクロ [ 5 , 4 , 0 ] ウンデケー 7 - エン ( DBU ) である請求項 1 記載の複素環化合物へのイミド基の導入法。

【請求項 7】 前記塩基がトリエチルアミンである請求項 1 記載の複素環化合物へのイミド基の導入法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【 0 0 0 1 】

【産業上の利用分野】本発明は、ヌクレオシド等の複素環化合物に対して、スクシンイミド基又はフタルイミド基を効率的に導入する方法に関する。

## 【 0 0 0 2 】

【従来の技術】生体関連化合物に安定同位体を位置選択的に導入することは、当該化合物の生体内における挙動、代謝等を核磁気共鳴吸収 ( NMR ) 、質量分析、発光スペクトル等の手段で解析するに際して重要である。例えば、近年、核酸 - 核酸あるいは核酸 - タンパク質相互作用の分子認識機構の解明は、 $^{15}\text{N}$  等の安定同位体で標識された化合物を用いた NMR 法で活発に行われている。このように安定同位体で標識されたヌクレオシドないしヌクレオチドを得るためには、例えば、ヌクレオシド又はヌクレオチドを構成する塩基部分に  $^{15}\text{N}$  等の安定同位体を効率よく導入することが重要となる。

【 0 0 0 3 】従来より、ヌクレオシドを構成する塩基部分に位置選択的に  $^{15}\text{N}$  を導入する方法としては、塩基部の変換反応 (例えば、ウリジン→シチジン、イノシン→アデノシン等) が用いられている。このような塩基部の変換反応による  $^{15}\text{N}$  の導入例としては、ウリジンの 4 位に導入されたメチルチオ基 (  $-\text{SCH}_3$  ) 、またはイノシンの 6 位に導入されたハロゲノ基 (  $-\text{Cl}$  ) を、 $^{15}\text{N}$  アンモニアで処理することにより  $[\text{4}-^{15}\text{N}]$  シチジン誘導体および  $[\text{6}-^{15}\text{N}]$  アデノシン誘導体へと変換することが知られている (C.-H. Niu, Anal. Biochem., 50

139, 404-407 (1984). J. Leonard and T. R. Henderson, J. Am. Chem. Soc., 97, 4990-4999 (1975). )。  $^{15}\text{N}$  でラベルされた試薬は一般に、かなり高価であるにもかかわらず、常温で気体の上記  $^{15}\text{N}$  アンモニアは保存性が悪く、また反応系には該アンモニアの過剰の当量数 (例えば 3 倍当量以上) を用い、加熱 (  $110-150^\circ\text{C}$  ) する必要がある、且つ反応条件のコントロールが難かしいため、上記方法は安定同位体の導入方法として好ましい方法とは言えない。

## 【 0 0 0 4 】

【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は、複素環を有する化合物の該複素環に、含窒素官能基を位置選択的に且つ効率的に導入できる含窒素官能基導入法を提供することにある。

【 0 0 0 5 】本発明の他の目的は、複素環を有する化合物たるヌクレオシドの該複素環 (塩基部) を、位置選択的に且つ効率的に他の複素環に変換できる方法を提供することにある。

【 0 0 0 6 】本発明の更に他の目的は、複素環を有する化合物の該複素環に、位置選択的に且つ効率的に  $^{15}\text{N}$  等の安定同位体を導入できる方法を提供することにある。

## 【 0 0 0 7 】

【課題を解決するための手段】本発明者らは鋭意研究の結果、複素環に結合したテトラゾリル基又はニトロトリアゾリル基が、緩やかな塩基性条件下で、求核試薬たるスクシンイミド誘導体又はフタルイミド誘導体に対して良好な脱離性を示すことを見出した。

【 0 0 0 8 】本発明のイミド基の導入法は、上記知見に基づくものであり、より詳しくは、テトラゾリル基又はニトロトリアゾリル基が結合した複素環を有する化合物に、塩基の存在下で、スクシンイミド誘導体又はフタルイミド誘導体を反応させることを特徴とするものである。

【 0 0 0 9 】本発明で用いる上記スクシンイミド誘導体又はフタルイミド誘導体は、常温 (  $25^\circ\text{C}$  ) において通常は固体であるのみならず、塩基性条件下で、脱離基たるテトラゾリル基又はニトロトリアゾリル基との組み合わせにおいて良好な求核性を示すため、本発明のイミド基導入法によれば、緩やかな条件下で、複素環に含窒素官能基たるイミド基を位置選択的に且つ効率的に導入することができる。したがって本発明によれば、複素環 (ヌクレオシドの塩基部) の変換ないし  $^{15}\text{N}$  等の安定同位体の導入を効率的に行うことができる。

【 0 0 1 0 】更に、本発明によれば、複素環に、スクシニル基又はフタロイル基で「既に保護されたアミノ基」を簡便に導入できるため、本発明の方法はスクシニル又はフタロイル誘導体の合成法としても極めて有用である。

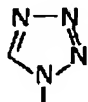
【 0 0 1 1 】以下、本発明を詳細に説明する。

【 0 0 1 2 】 (複素環化合物) 本発明においては、複素

3  
環化合物として、1H-テトラゾリル (Te) 基 (化1) 又はニトロトリアゾリル (NT) 基 (化2) が結合した複素環を有する化合物を用いる。

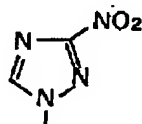
【0013】

【化1】



【0014】

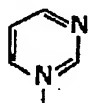
【化2】



【0015】上記テトラゾリル基 (化1) 又はニトロトリアゾリル基 (化2) が結合すべき複素環の種類、及びこれらの含窒素官能基が結合すべき複素環上の位置は特に制限されないが、核酸化学分野への応用の点からは、上記複素環は含窒素複素環 (少なくとも1以上の窒素原子を含む複素環) であることが好ましく、ピリミジン骨格 (化3) ないしプリン骨格 (化4) を有する複素環であることが更に好ましい。

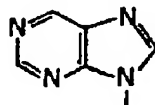
【0016】

【化3】



【0017】

【化4】

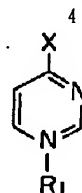


【0018】上記ピリミジン骨格 (化3) を有する複素環としては、例えば、チミン、ウラシル等が挙げられる。一方、上記プリン骨格 (化4) を有する複素環としては、例えば、グアニン、キサンチン、テオブロミン等が挙げられる。

【0019】より具体的には、例えば、本発明において用いられる複素環化合物は、下記 (化5) または (化6) の構造式を有していることが好ましい。

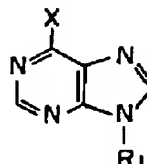
【0020】

【化5】



【0021】

【化6】

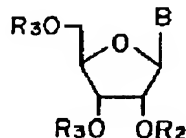


【0022】上記式 (化5) 又は (化6) において、X はテトラゾリル基 (化1) 又はニトロトリアゾリル基 (化2) を示し、R<sub>1</sub> はグリコシル (glycosyl) 基を示す。このグリコシル基は、ペントース (五炭糖) 由来のグリコシル基であることが好ましく、リボース又は2'-デオキシリボース由来のグリコシル基であることが更に好ましい。

【0023】より具体的には、例えば、本発明において用いられるリボース由来のグリコシル基は、下記 (化7) の構造式を有していることが好ましい。

【0024】

【化7】

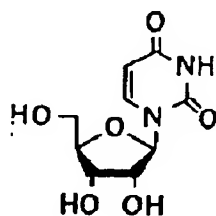
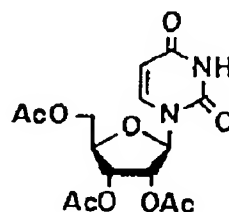
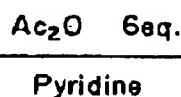


【0025】上記式 (化7) において、B は複素環基 (塩基部) を示し、R<sub>1</sub> 及び R<sub>2</sub> は、本発明のイミド基導入反応に不活性な保護基を示す。R<sub>1</sub> 及び R<sub>2</sub> は同一であってもよく又異なってもよいが、ポリヌクレオチド合成の際の便宜の点からは、R<sub>1</sub> 及び R<sub>2</sub> は異なる保護基 (すなわち、異なる反応により除去可能な保護基) であることが好ましい。より具体的には、例えば、R<sub>1</sub> (2'-水酸基の保護基) はテトラヒドロピラニル基 (THP基)、4-メトキシテトラヒドロピラン-4-イル基 (MTHP基) およびテトラヒドロフラニル基 (THF基) 等の酸性条件下で除去可能な基であることが好ましい。

【0026】一方、R<sub>2</sub> (3' および 5' 水酸基の保護基) は、上記 2'-水酸基の保護基およびスクシニル基 (ないしフタロイル基) に実質的に影響を与えずに除去することが可能な基であることが好ましい。より具体的には、例えば、R<sub>2</sub> はシリル基、あるいは脂肪族又は芳香族のアシル基 (ベンゾイル基、アセチル基等) であることが好ましい。

5

【0027】（複素環化合物の製造法）上記した複素環化合物の製造法は特に制限されないが、例えば、上記式（化7）に示す化合物（例えば、 $R_1 = R_2 = \text{アセチル基 (Ac基)}$ ）は、以下のようにして製造することが好ましい。

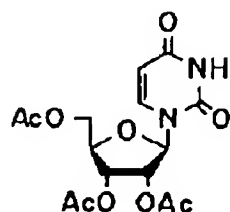
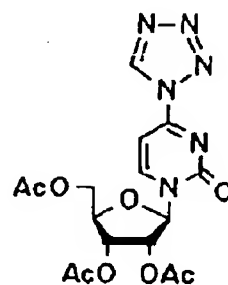
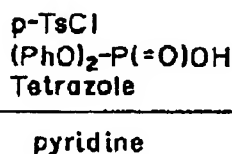
1

78%

2

【0030】上記したウリジンのトリアセチル体（2）に、脱離基（1,2,4-トリアゾリル(T)、3-ニトロ-1,2,4-トリアゾリル(NT)又は1H-テトラゾリル(Te)基）を導入する方法としては、次に述べる方法が利用可能である。

- 【0031】1) 1-(メシチレン-2-スルホニル)テトラゾール(MSTe) (5eq.) または 1-(メシチレン-2-スルホニル)-3-ニトロ-1,2,4-トリアゾール(MSNT) (2.5eq.) -リン酸ジフェニル (0.5eq.) / ピリジン系 (Te又はNT誘導体) (C.B.Reese and A.Ubasawa, Nucleic Acids Res. Symp. Ser., No7, 5-21 (1980). を参照することができる)
- 2) ジフェニルホスホロクロリダート ((PhO)<sub>2</sub>POCl) - 3-ニトロ-1,2,4-トリアゾール / ピリジン系 (NT誘導体) (S.S.Jones, C.B.Reese S.Sibanda, and A.Ubasawa, Tetrahedron Lett., 22, 4755-4758 (1981) を参照することができる)
- 3) p-クロロフェニルホスホロクロリダート (ClPhOP(O)Cl) (2.7eq.) - 3-ニトロ-1,2,4-トリアゾール (2.0eq.) / ピリジン系 (T誘導体) (W.L.Sung, J. Org. Chem., 47, 3623-3628 (1982) を参照することができる)
- 4) オキシ塩化リン (2.5eq.) - 1,2,4-トリアゾール

23-Te

【0035】上記（化9）の反応は極めて緩やかに進行し、4日後に反応を停止した。この反応により、化合物 3-Te を 70% の収率で得ることができた。

【0028】まず、常法にしたがって、ウリジン（1）を無水酢酸-ピリジンでアセチル化してウリジンのトリ-O-アセチル体（2）を得る（化8）。

【0029】

【化8】

(22.5eq.) - トリエチルアミン (23eq.) / アセトニトリル系 (T誘導体) (R.P.Hodge, C.K.Brush, C.M.Harris, and T.M.Harris, J. Org. Chem., 56, 1553-1564 (1991); K.J.Divakar and C.B.Reese, J. Chem. Soc. Perkin I, 1171-1176 (1982) を参照することができる) などが挙げられる。

【0032】本発明においては、上述したような方法1) ~ 4) で用いたような高価な試薬や大過剰の試薬を用いる必要がない点からは、塩化 p-トルエンスルホニル - 3-ニトロ-1,2,4-トリアゾール、又は1H-テトラゾール / ピリジン、又はさらにリン酸ジフェニルを加えた反応系を用いて、4-(テトラゾリル)-( 3-Te ) 又は4-(3-ニトロ-1,2,4-トリアゾリル) 誘導体 ( 3-NT ) を合成することが好ましい。このような試薬を用いた場合、その取り扱いが容易で且つ高い反応性が容易に得られる。

【0033】（テトラゾリル誘導体 ( 3-Te ) の合成）上記したウリジンのトリアセチル体（2）に、ピリジン溶媒中、p-トルエンスルホニルクロリド (p-TsCl) 4当量、テトラゾール 2当量を加え室温 (r.t.) で反応を行った（化9）。

【0034】

【化9】

【0036】このようなテトラゾリル化反応においては、反応の促進の点からは、反応系にリン酸ジフェニルを加えることが好ましい。すなわち、（化9）に示すよ

うに、ウリジンのトリアセチル体 (2) にピリジン溶媒中、p-TsCl 4当量、およびテトラゾール 2当量、さらにリン酸ジフェニル 1.2当量を加え室温で反応させたところ、反応は時間の経過とともに緩やかに進行し24時間後に完結した。このように、4-(テトラゾリル)誘導体の合成に際しては、塩化 p-トルエンスルホニル-H-テトラゾール系においてリン酸ジフェニルを含む系を用いることが好ましい。

【0037】さらに、上記反応を 50℃の反応条件下で行ったところ、反応は速やかに進行し 3時間で反応は完 10

結した。また収率も 88%と高収率で化合物 3-Teを得ることができた(表 1 参照)。したがって、上記反応(化 9)においては、必要に応じて加熱(40~50℃程度)することが好ましい。また、上記反応(化 9)においては、原料のトリアセチル体(2) 1モルに対して、 $p-TsCl$ を1~4モル、テトラゾールを1~2モル用いることが好ましい。

【 0 0 3 8 】

【表 1】

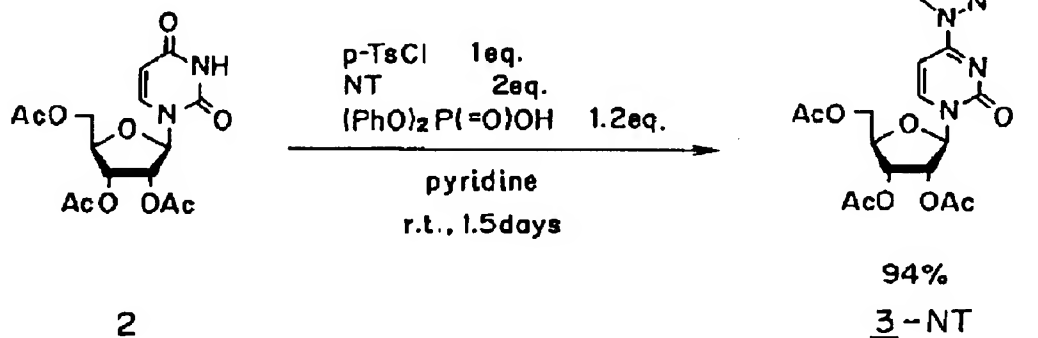
p-TsCl	Tetrazole	リン酸ジフェニル	反応温度	time	収 率
1 eq.	2eq.	—	r. t.	4 days	70%
4eq.	2eq.	1.2eq.	r. t.	1 day	89%
4eq.	2eq.	1.2eq.	50°C	3h	88%

【 0 0 3 9 】 ( 4 - ( 3 - ニトロ - 1, 2, 4 - トリアゾリル ) 誘導体 ( 3-NI ) の合成 ) 上記 3 - N T 誘導体の合成は、上記テトラゾリル誘導体 ( 3-Te ) の合成と同様に行うことが好ましい。すなわち、( 化 1 0 ) に示すように、ピリジン溶媒中で、ウリジンのトリアセチル体 ( 2 ) に D -

TsClと、ニトロトリアゾールとを反応させることが好ましい。

【 0 0 4 0 】

【化 1 0】



【0041】上記(化10)に示すように、ウリジンのトリアセチル体(2)にピリジン溶媒中、p-TsCl 2当量、3-ニトロトリアゾール2当量、およびリン酸ジフェニル1.2当量を加え室温で反応させた。反応は時間の経過とともに緩やかに進行した。反応は36時間後に完結

し収率 94%で化合物 3-NIを得ることができた(表 2)。

【 0 0 4 2 】

【表 2】

p-TsCl	3-nitro-triazole	リン酸ジフェニル	反応温度	time	収率
1eq.	2eq.	1.2eq.	r.t.	1.5days	94%

【００４３】上記反応（化１０）においては、必要に応じて加熱（４０～５０℃程度）することが好ましい。また、上記反応（化１０）においては、原料のトリアセチル体（２）１モルに対して、 $p$ -TsClを１～４モル、３-ニトロトリアゾールを１～２モル用いることが好ましい。

【0044】（プリン骨格を有する複素環化合物の合成）上記式（化7）において塩基部Bがプリン塩基から 50

なる場合にも、上記したようなピリミジン塩基を有する化合物と同様に合成することができる。

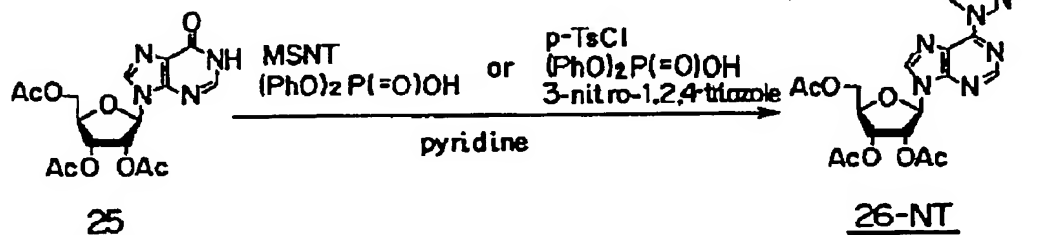
【 0 0 4 5 】 例 えば、イノシン ( 2 4 ) を上 記 式 ( 化 8 ) と 同 様 に アセチル 化 し て イノシンの トリー オ アセチル 体 ( 2 5 ) と し た 後、リン 酸 トリ エステル 法 に お ける 活 性 化 剤 で あ る M S N T ( 1 - ( 2 - メシチレンスルホニル ) - 3 - ニトロ - 1 , 2 , 4 - トリアゾール ) - リン 酸 ジフェニル の 系 又 は p - T s C l - 3 - ニトロ - 1 , 2 , 4 - ト

リアゾール-リン酸ジフェニルの系を用いて、6-(3-ニトロ-1,2,4-トリアゾリル)誘導体(26-NT)を合成することができる(化11)。試薬のコストを考慮すれ

ば、後者の試薬を用いることが好ましい。

【0046】

【化11】



【0047】すなわち、トリアセチル体(25)にピリジン溶媒中、MSNT 1.5当量、およびリン酸ジフェニル 1.2当量を加え、室温下で反応を行なった。5日後反応を停止したところ、68%の収率でニトロトリアゾリル誘導体(26-NT)を得ることができた(表3)。また、トリアセチル体(25)にピリジン溶媒中、p-TsCl 2.4当量、3-ニトロ-1,2,4-トリアゾール 2.4当量、および

リン酸ジフェニル 1.2当量を加え室温下で反応を行なったところ、反応の進行は極めて緩やかであった。7日目に反応を停止したところ、ニトロトリアゾリル誘導体(26-NT)を84%の収率で得ることができた(表3)。

【0048】

【表3】

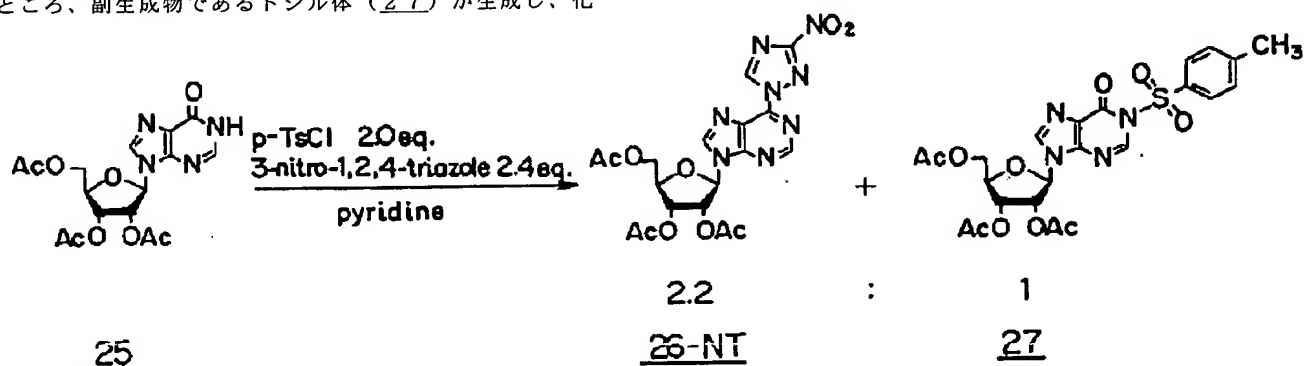
MSNT	—	リン酸ジフェニル	反応温度	time	収率
15eq.	—	1.2eq.	r.t.	5days	68%
3-NT	p-TsCl	リン酸ジフェニル	反応温度	time	収率
24eq.	24eq.	1.2eq.	r.t.	7days	84%

【0049】上記反応系に加えたリン酸ジフェニルの効果を見るために、(化12)に示すようにp-TsCl-3-ニトロ-1,2,4-トリアゾールのみを用いて反応を行なったところ、副生成物であるトシル体(27)が生成し、化

合物(26-NT)の収率が減少した。

【0050】

【化12】

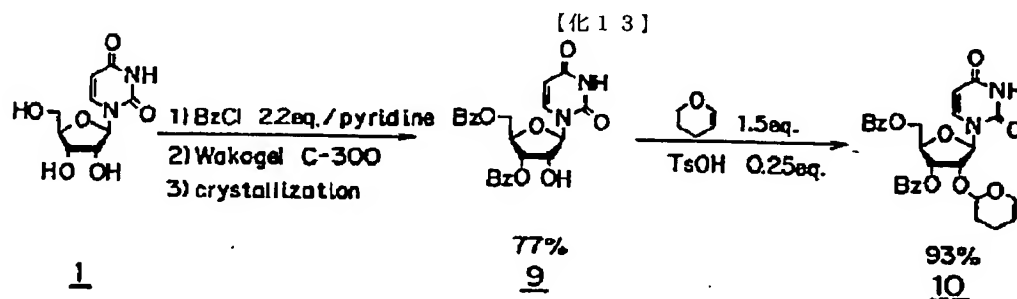


【0051】上述したように、トリアセチル体(25)に3-ニトロ-1,2,4-トリアゾリル基を導入する場合には、p-TsCl-3-ニトロ-1,2,4-トリアゾール-リン酸ジフェニル系の試薬を用いることが特に好ましい。このような試薬を用いた反応系では、p-TsCl-3-ニトロトリアゾール系に見られる副生成物の生成が抑えられるのみならず、MSNT-リン酸ジフェニルを用いた系と同様に3-ニトロ-1,2,4-トリアゾリル基の導入を確実に行うことができる。

【0052】(異なる保護基を有する複素環化合物の合

成)ヌクレオチドのオリゴマー合成上の便宜からは、上記した複素環化合物(化7)において、R<sub>1</sub>とR<sub>2</sub>とは異なる保護基であることが好ましい。このような化合物(例えば、(化7)においてR<sub>1</sub>=THP基、R<sub>2</sub>=ベンゾイル基(Bz基))は、例えば、水酸基がフリーのリボフラノシル誘導体(化7においてR<sub>1</sub>=R<sub>2</sub>=H)の3'および5'水酸基をベンゾイル基で選択的に保護した後、残る2'水酸基をTHPで保護することにより得ることが好ましい。より具体的には、上記化合物は、例えば、以下のようにして製造することができる。

【 0 0 5 3 】

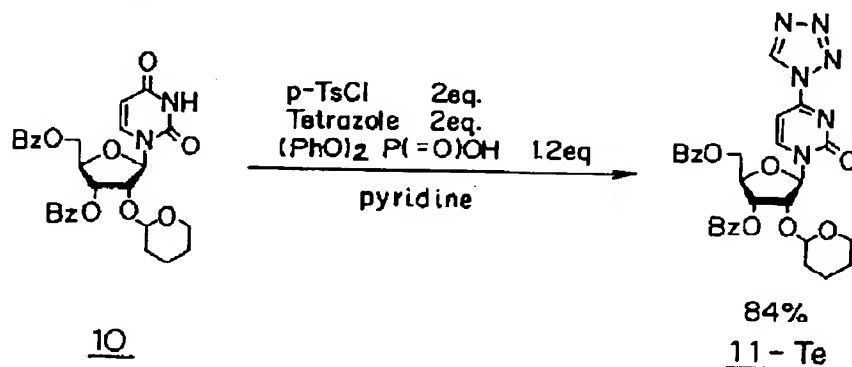


【 0 0 5 4 】 すなわち、(化 1 3) に示すように、ウリジン (1) に、ピリジン溶媒中 2.2 当量の塩化ベンゾイルを作用させ (氷冷下、 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  に溶解させた  $\text{BzCl}$  を滴下)、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製した後、メタノール溶媒を用いて再結晶することにより、3' および 5' 水酸基を選択的に保護したウリジン (9) を合成した。さらに、このようにして得たウリジン誘導体 (9) の 2' 水酸基を THP 基で保護し、3', 5'-ジ-0-ベンゾイル-2'-0-(テトラヒドロピラン-2-イル) ウリジン化合物 (10) を得た。

【 0 0 5 5 】 上記のようにして得た「異なる保護基を有する複素環化合物」も、上記式 (化 9) または (化 10) と同様に、テトラゾリル (Te) 化またはニトロトリアゾリル (NT) 化することが可能である。例えば、 $p\text{-TsCl}$  およびリン酸ジフェニルの存在下で、上記複素環化合物にテトラゾールを反応させることにより、テトラゾリル誘導体を得ることができる。

【 0 0 5 6 】

(化 1 4)



【 0 0 5 7 】 すなわち、上記式 (化 1 4) に示すように、上記ウリジン誘導体 (10) にピリジン溶媒中、 $p\text{-TsCl}$  2 当量、テトラゾール 2 当量、およびリン酸ジフェニル 1.2 当量を加え、室温で 8 時間反応させたところ、4-テトラゾリル誘導体 (11-Te) を 84% の良好な収率で得ることができた。

【 0 0 5 8 】 (イミド化合物) 次に、上述したような複素環化合物に反応させるべき求核試薬たるイミド化合物 (スクシンイミド誘導体およびフタルイミド誘導体) について説明する。

【 0 0 5 9 】 上記スクシンイミド誘導体ないしフタルイミド誘導体としては、スクシンイミドまたはフタルイミドそのものが好ましく用いられるが、これらのイミドは、本発明のイミド化反応に不活性な置換基 (例えば、低級アルキル基 (炭素数 1~4)、ハロゲン基等) を有していてもよい。

【 0 0 6 0 】 上記スクシンイミド誘導体またはフタルイミド誘導体は、複素環化合物 1 モルに対して、1~3 モル程度 (更には 1~2 モル程度) 用いることが好ましい。本発明において、脱離基たるテトラゾリル基又はニ

トロトリアゾリル基は、上記求核試薬に対して良好な脱離性を示すため、従来の求核試薬 (例えばアンモニア) よりも少ない量の求核試薬を用いた場合にも、効率的なイミド化反応を行うことが可能となる。

【 0 0 6 1 】 したがって、上記スクシンイミド誘導体またはフタルイミド誘導体として、安定同位体  $^{15}\text{N}$  を標識した化合物を用いれば、比較的高価な安定同位体標識試薬を効率良く用いて、複素環化合物に  $^{15}\text{N}$  を位置選択的に導入することができる。

【 0 0 6 2 】 (塩基) 本発明のイミド化反応においては、上記した複素環化合物と、スクシンイミド誘導体またはフタルイミド誘導体とを、塩基の存在下で反応させる。

【 0 0 6 3 】 上記塩基としては、ブレンステッド塩基及び/又はルイス塩基を用いることが可能であるが、反応に際して用いられる溶媒に対する溶解性の点からは、塩基性を有する有機化合物 (例えば有機アミン) が好ましく用いられる。求核性の点を考慮すれば、上記有機アミンとしては、炭素数 1~4 の低級アルキル基を有するトリアルキルアミン (例えばトリエチルアミン) 及び/又



13

はビシクロ環を有するアミン (特に、ビシクロ環を構成する橋頭原子 (bridgehead atom) の少なくとも一つが窒素原子であるアミン) が好ましく用いられる。このようなビシクロ環を有するアミンとしては、例えば、ジアザビシクロ [5, 4, 0] ウンデクー 7 - エン (DBU) を用いることが好ましい。

【0064】大きい反応速度が容易に得られる点からは、上記したDBU等の比較的強い塩基を用いることが好ましいが、副生成物を抑制する点からは、上記トリアルキルアミン等の比較的弱い塩基を用いることが好ましい。

【0065】本発明においては、上記塩基は、複素環化合物 1 当量に対して、1 ~ 5 当量程度用いることが好ましい。

【0066】本発明のイミド化反応において、スクシニル基またはフタロイル基の開環状態にある化合物の生成が (例えば薄層クロマトグラフィー (TLC) 上のスポットとして) 認められる場合があるが、このような場合には、例えば酸無水物 - アルカリ (無水酢酸 - トリエチルアミン、無水トリフルオロ酢酸 - ピリジン等) の試薬を用いた閉環反応を必要に応じて行うことが好ましい。複素環化合物 1 当量に対して、上記酸無水物は、1 ~ 4 当量用いることが好ましく、アルカリは 1 ~ 4 当量用いることが好ましい。

【0067】(溶媒) 本発明のイミド化反応においては、必要に応じて溶媒が用いられる。この溶媒としては、本発明における反応温度で液体である限り、一般に有機反応で用いられているものを特に制限なく使用する

14

ことができる。より具体的には、例えば、塩化メチレン、クロロホルム、1, 2 - ジクロロエタン等の含ハロゲン炭化水素溶媒等が好ましく用いられる。

【0068】本発明のイミド化反応においては、該反応の進行が実質的に阻害されない範囲内であれば、前記溶媒の使用量は特に制限されないが、反応操作上の容易性及び反応速度のバランスの点からは、複素環化合物 1 mmol (ミリモル) のスケールの場合で、溶媒を 2 ~ 10 ml (ミリリットル) 程度 (更には 2 ~ 5 ml 程度) 用いることが好ましい。

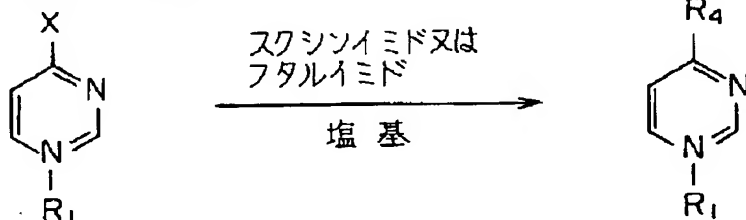
【0069】なお、ここに記載した量比は、あくまで複素環化合物と溶媒との好ましい量比の例を示すものであり、実際の反応のスケールを何等限定するものではない。

【0070】(反応温度) 本発明のイミド化反応においては、脱離基たるテトラゾリル基又はニトロトリアゾリル基が上記イミド化合物 (求核試薬) に対して良好な脱離性を示すため、該反応は室温 (25℃) 付近で行うことが可能であるが、反応速度等を考慮して、必要に応じて加熱しつつ行ってもよい。加熱する場合には、反応温度は 40℃ 以下 (反応溶媒として CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: (b.p. 40°C) を用いる場合) であることが好ましい。

【0071】(イミド化反応の好ましい態様) 上述したような本発明のイミド化反応の好ましい態様としては、例えば、下記式 (化 15) および (化 16) に示す態様が挙げられる。

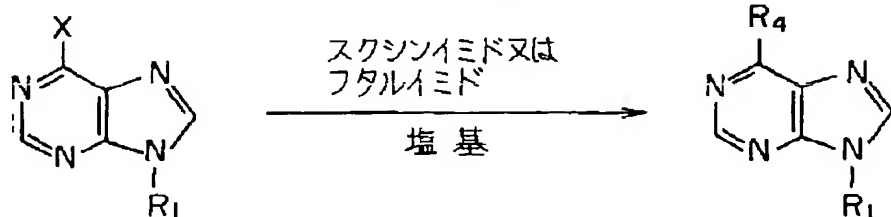
【0072】

【化 15】



【0073】

【化 16】



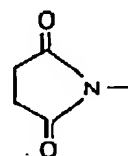
【0074】(上記式 (化 15) および (化 16) 中、X および R<sub>1</sub> は (化 5) または (化 6) におけると同義。R<sub>4</sub> はスクシニイミド基 (化 17) またはフタロイミド基 (化 18) を示す。)

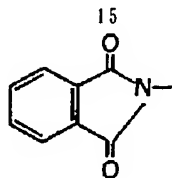
【0075】

【化 17】

【0076】

【化 18】





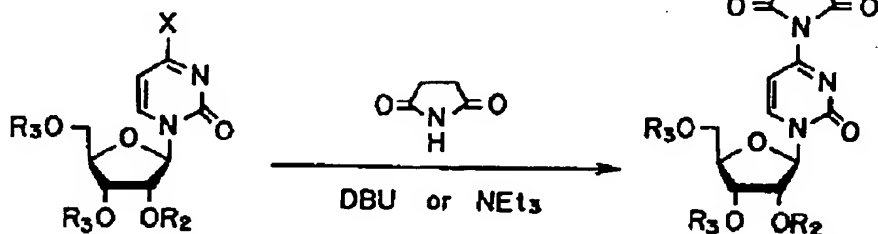
16

本発明のイミド化反応の好ましい態様としては、例えば、下記式(化19)および(化20)に示す態様が挙げられる。

【0078】

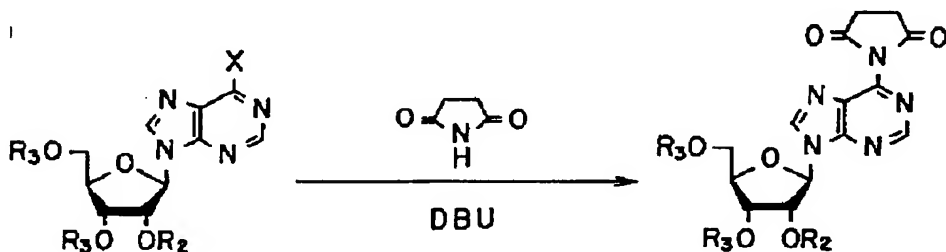
【化19】

【0077】複素環化合物がヌクレオシドである場合、



【0079】

【化20】



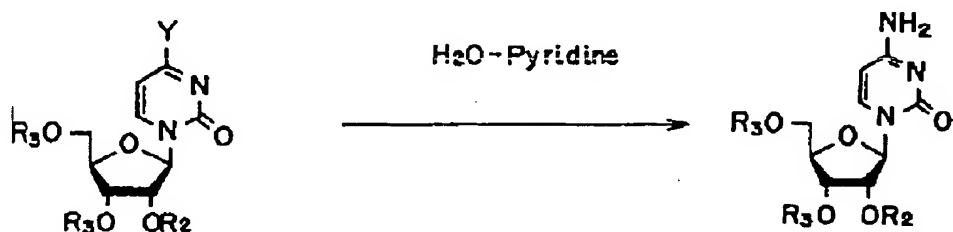
【0080】(上記式(化19)および(化20)中、X、R<sub>1</sub> および R<sub>2</sub> は(化5)および(化7)におけると同義。)

(イミド化生成物) 本発明によれば、イミド化生成物たるN-スクシニルまたはN-フタロイル化合物が効率良く得られる。このようなイミド化生成物は、必要に応じて単離ないし精製した後、次の反応に用いることができる。原料たる複素環化合物がヌクレオシド(例えばシチジン)である場合、その塩基部アミノ基に対するフタロイル基の安定性が低い場合がある。このような場合には、上記イミド化生成物を単離することなく、次の反応(例えばフタロイル基の除去反応)を行うことが好ましい。

【0081】上記イミド化生成物のN-スクシニル基またはN-フタロイル基の除去は、常法(例えば、NaOH/水-エタノール-ピリジン、conc. NH<sub>4</sub> OH-メタノール等の塩基性条件)により行うことが可能である。特に、N'-フタロイルシチジン誘導体においては、N'-位のアミノ基の保護基としてフタロイル基が不安定なために、下記式(化21)に示すように、水-ピリジン(量比1:1 v/v)を用いて除去することができ、フリーのアミノ基を有する化合物を得ることができる。

【0082】

【化21】



【0083】(上記式中、R<sub>1</sub> および R<sub>2</sub> は(化5)および(化7)におけると同義。Yはスクシニミド基またはフタロイミド基を示す。)

このようにして得たフリーのアミノ基を有する化合物(例えば、化21の生成物において、R<sub>1</sub> = THP、R<sub>2</sub> = Bz)(16)の該アミノ基を、下記式(化22)

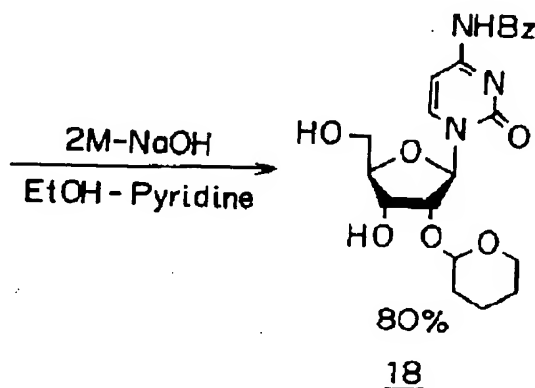
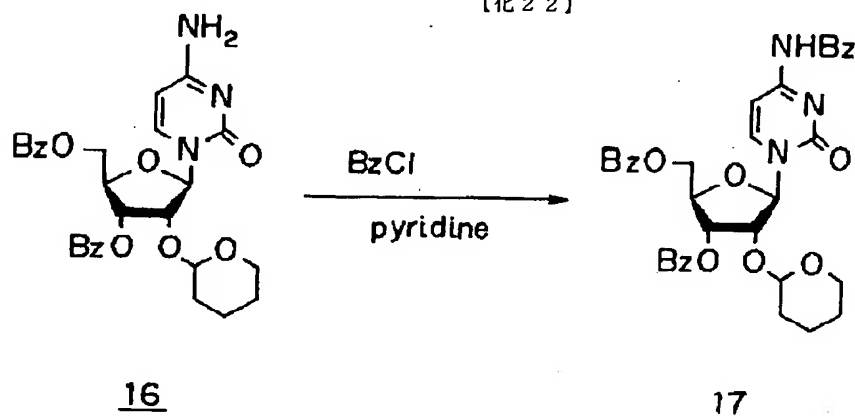
に示すように、例えば塩化ベンゾイル-ピリジンを用いてベンゾイル化して-NHBz基とした(17)後、NaOH/水-エタノール-ピリジンを用いて糖部分水酸基のベンゾイル基(R<sub>1</sub>)を選択的に除去することにより、オリゴボヌクレオチド合成の重要な中間体である化合物(18)を効率良く合成することができる。

【 0 0 8 4 】

17

【 化 2 2 】

18



【 0 0 8 5 】 以下、製造例、実施例および参考例を用いて本発明を更に具体的に説明する。

【 0 0 8 6 】

【 実施例 】

#### 製造例 1

(2',3',5'-トリ-O-アセチルウリジン(2)の合成)  
uridine (1) (4.884g, 20mmol) をピリジン (20mL x 3) で共沸脱水した後、ピリジン (100mL) に溶かし、さらに無水酢酸 (11.28mL, 120mmol) を加え室温で3時間攪拌した。反応溶液を減圧下濃縮し、残留物をメタノール (30mL) に溶かし放置した。生成した結晶を濾別分取し、2',3',5'-Tri-O-acetyluridine (2) を 77% (5.6

94g, 15.37mmol) の収率で得た。  
【 0 0 8 7 】 <sup>1</sup>H-n.m.r. (CDCl<sub>3</sub>) : δ 2.10, 2.13 and 2.14 (3s, 9H, COC H, x 3), 4.32-4.38 (m, 3H, H-4', 5' and 5''), 5.31-5.37 (m, 2H, H-2' and 3'), 5.80 (d, 1H, J<sub>5,6</sub> = 8.22Hz, H-5), 6.04 (d, 1H, J<sub>4,5</sub> = 4.95Hz, H-1'), 7.40 (d, 1H, H-6), 9.41 (br s, 1H, N<sup>1</sup>-H)。

#### 製造例 2

(4-テトラゾリル-1-(2',3',5'-トリ-O-アセチル-β-D-リボフラノシル)ピリミジン-2(1H)-オン(3-Ie)の合成)

(3-Ie) の合成)

合成法1)

製造例1で得た2',3',5'-Tri-O-acetyluridine (2) (0.741g, 2mmol) をピリジン (4mL x 3) で共沸脱水した後、ピリジン (5mL) に溶かし、さらに 1H-テトラゾール (0.282, 4mmol) および塩化 p-トルエンスルホニル (0.763, 2mmol) を加え室温で4日間攪拌した。水 (3mL) を加え反応を停止した後、塩化メチレン (50mL) で抽出し、さらに 5% 炭酸水素ナトリウム水溶液 (25mL x 2) および水 (25mL) で洗浄した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥後、硫酸マグネシウムを濾別除去し、減圧下濃縮した。残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製して 4-Tetrazolyl-1-(2',3',5'-tri-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)pyrimidin-2(1H)-one (3-Ie) を 70% (0.593g, 1.4mmol) の収率で得た。

【 0 0 8 8 】 合成法2)

製造例1で得た2',3',5'-Tri-O-acetyluridine (2) (0.185g, 0.5mmol) をピリジン (2mL x 3) で共沸脱水した後、ピリジン (1.25mL) に溶かし、さらに 1H-テトラゾール (0.070, 1mmol), リン酸ジフェニル (0.150g,

0.6mmol)および塩化 p-トルエンスルホン (0.381, 2 mmol) を加え室温で1日間攪拌した。反応溶液を上述の方法と同様にして抽出処理した後、精製して4-Tetrazolyl-1-(2',3',5'-tri-O-acetyl- $\beta$ -D-ribofuranosyl)pyrimidin-2(1H)-one (3-Te) を89% (0.189g, 0.445 mmol)の収率で得た。

#### 【0089】合成法3)

製造例1で得た2',3',5'-Tri-O-acetyluridine (2) (0.371g, 1mmol) をピリジン (3mL x 3)で共沸脱水した後、ピリジン (2.5mL)に溶かし、さらに1H-テトラゾール (0.140, 2mmol), リン酸ジフェニル (0.300g, 1.2mmol)および塩化p-トルエンスルホン (0.763, 4mmol)を加え50℃で3時間攪拌した。反応溶液を上述の方法と同様にして抽出処理した後、精製して4-Tetrazolyl-1-(2',3',5'-tri-O-acetyl- $\beta$ -D-ribofuranosyl)pyrimidin-2(1H)-one (3-Te) を88% (0.372g, 0.877mmol)の収率で得た。

【0090】<sup>1</sup>H-n.m.r. (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  2.10, 2.13 and 2.17 (3s, 9H, COC H, x 3), 4.38-4.53 (m, 3H, H-4',5' and 5"), 5.29 (t, 1H, J<sub>4',5'</sub> = J<sub>5',6'</sub> = 5.39 Hz, H-3'), 5.47 (dd, 1H, J<sub>2',3'</sub> = 3.80Hz, H-2'), 6.13 (d, 1H, H-1'), 7.26 (d, 1H, J<sub>5,6</sub> = 7.16Hz, H-5), 8.37 (d, 1H, H-6), 9.61 (brs, 1H, N=C H-N of tetrazolyl moiety). (\* C.B. Reese and A. Ubasawa, Nucleic Acids Res. Symp. Ser., No. 7, 5-21 (1980). を参照)

#### 製造例3

(4-(3-ニトロ-1,2,4-トリアゾール-1-イル)-1-(2',3',5'-トリ-O-アセチル- $\beta$ -D-リボフラノシル)ピリミジン-2(1H)-オン (3-NT) の合成) 製造例1で得た2',3',5'-Tri-O-acetyluridine (2) (1.481g, 4mmol) をピリジン (6mL x 3)で共沸脱水した後、ピリジン (16mL)に溶かし、さらに3-ニトロ-1,2,4-トリアゾール (0.913g, 8mmol), リン酸ジフェニル (1.201g, 4.8mmol)および塩化p-トルエンスルホン (1.525g, 8mmol)を加え室温で1.5日間攪拌した。反応溶液を上述の方法と同様にして抽出処理した後、精製して4-(3-Nitro-1,2,4-triazol-1-yl)-1-(2',3',5'-tri-O-acetyl- $\beta$ -D-ribofuranosyl)pyrimidin-2(1H)-one (3-NT) を94% (1.754g, 3.76mmol)の収率で得た。

【0091】<sup>1</sup>H-n.m.r. (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  2.12, 2.16 and 2.17 (3s, 9H, COC H, x 3), 4.40-4.55 (m, 3H, H-4',5' and 5"), 5.30 (t, 1H, J<sub>4',5'</sub> = J<sub>5',6'</sub> = 5.61 Hz, H-3'), 5.47 (dd, 1H, J<sub>2',3'</sub> = 3.84Hz, H-2'), 6.14 (d, 1H, H-1'), 7.17 (d, 1H, J<sub>5,6</sub> = 7.29Hz, H-5), 8.37 (d, 1H, H-6), 9.34 (brs, 1H, N=C H-N of 3-nitro-1,2,4-triazolyl moiety). (\* C.B. Reese and A. Ubasawa, Nucleic Acids Res. Symp. Ser., No. 7, 5-21 (1980). を参照)

#### 実施例1

(2',3',5'-トリ-O-アセチル-N<sup>4</sup>-スクシニルシチジン (4) の合成)

#### 合成法1)

製造例2で得た4-Tetrazolyl-1-(2',3',5'-tri-O-acetyl- $\beta$ -D-ribofuranosyl)pyrimidin-2(1H)-one (3-Te) (0.211g, 0.5mmol) を塩化メチレン (1.25mL)に溶かし、スクシンイミド (0.074g, 0.75mmol) およびトリエチルアミン (0.35mL, 2.5mmol)を加え室温で1.5日間攪拌した。さらに無水酢酸 (0.093mL, 1mmol) およびトリエチルアミン (0.28mL, 2mmol)を加え1時間攪拌した後、反応溶液を減圧下濃縮した。残留物を塩化メチレン (30mL)に溶かし、5%炭酸水素ナトリウム水溶液 (15mL x 2) および水 (15mL)で洗浄した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥後、硫酸マグネシウムを濾別除去し、減圧下濃縮した。残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製して2',3',5'-Tri-O-acetyl-N<sup>4</sup>-succinylcytidine (4) を88% (0.198g, 0.439mmol)の収率で得た。

#### 【0092】合成法2)

製造例2で得た4-Tetrazolyl-1-(2',3',5'-tri-O-acetyl- $\beta$ -D-ribofuranosyl)pyrimidin-2(1H)-one (3-Te) (0.211g, 0.5mmol) を塩化メチレン (1.25mL)に溶かし、スクシンイミド (0.059g, 0.6mmol)およびDBU (0.09mL, 0.6mmol)を加え室温で5時間攪拌した。さらに無水酢酸 (0.093mL, 1mmol) およびトリエチルアミン (0.28mL, 2mmol)を加え1時間攪拌した。反応溶液を上述の方法と同様にして抽出処理した後、精製して2',3',5'-Tri-O-acetyl-N<sup>4</sup>-succinylcytidine (4) を80% (0.18g, 0.399mmol)の収率で得た。

#### 【0093】合成法3)

製造例3で得た4-(3-Nitro-1,2,4-triazol-1-yl)-1-(2',3',5'-tri-O-acetyl- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-pyrimidin-2(1H)-one (3-NT) (0.233g, 0.5mmol) を塩化メチレン (1.25mL)に溶かし、スクシンイミド (0.074g, 0.75mmol) およびトリエチルアミン (0.35mL, 2.5mmol)を加え室温で2日間攪拌した。さらに無水酢酸 (0.09mL, 1mmol)およびトリエチルアミン (0.28mL, 2mmol)を加え1時間攪拌した。反応溶液を上述の方法と同様にして抽出処理した後、精製して2',3',5'-Tri-O-acetyl-N<sup>4</sup>-succinylcytidine (4) を79% (0.178g, 0.394mmol)の収率で得た。

【0094】<sup>1</sup>H-n.m.r. (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  2.09, 2.14 and 2.15 (3s, 6H, COC H, x 3), 2.90 (s, 4H, COCH<sub>3</sub>), 4.36-4.47 (m, 3H, H-4',5' and 5"), 5.36 (t, 1H, J<sub>4',5'</sub> = J<sub>5',6'</sub> = 5.44Hz, H-3'), 5.46 (dd, 1H, J<sub>2',3'</sub> = 3.73Hz, H-2'), 6.14 (d, 1H, H-1'), 6.54 (d, 1H, J<sub>5,6</sub> = 7.22Hz, H-5), 8.14 (d, 1H, H-6).

元素分析 (C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>N<sub>8</sub>O<sub>10</sub>, 0.5H<sub>2</sub>O)

Calcd.: C, 49.57; H, 4.82; N, 9.13.

Found: C, 49.61; H, 4.82; N, 9.13.

## 実施例2

(2',3',5'-トリ-O-アセチルシチジン(8)の合成)  
合成法1)

製造例2で得た4-Tetrazolyl-1-(2',3',5'-tri-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)pyrimidin-2(1H)-one (3-Te) (0.211g, 0.5mmol) を塩化メチレン (1.25mL) に溶かし、フタルイミド (0.110g, 0.75mmol) およびトリエチルアミン (0.35mL, 2.5mmol) を加え室温で10時間攪拌した。さらに1:1水-ピリジン (2mL) を加え1時間攪拌した後、反応溶液を減圧下濃縮した。残留物を塩化メチレン (30mL) に溶かし、5% 炭酸水素ナトリウム水溶液 (15mL x 2) および水 (15mL) で洗浄した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥後、硫酸マグネシウムを濾別除去し、減圧下濃縮した。残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製して2',3',5'-Tri-O-acetylcytidine (8) を94% (0.174g, 0.471mmol) の収率で得た。

## 【0095】合成法2)

製造例2で得た4-Tetrazolyl-1-(2',3',5'-tri-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)pyrimidin-2(1H)-one (3-Te) (0.211g, 0.5mmol) を塩化メチレン (1.25mL) に溶かし、フタルイミド (0.110g, 0.75mmol) および DBU (0.11mL, 0.75mmol) を加え室温で15分間攪拌した。さらに1:1水-ピリジン溶液 (2mL) を加え1時間攪拌した。反応溶液を上述の方法と同様にして抽出処理した後、精製して2',3',5'-Tri-O-acetylcytidine (8) を74% (0.137g, 0.37mmol) の収率で得た。

## 【0096】合成法3)

製造例3で得た4-(3-Nitro-1,2,4-triazol-1-yl)-1-(2',3',5'-tri-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-pyrimidin-2(1H)-one (3-NT) (0.233g, 0.5mmol) を塩化メチレン (1.25mL) に溶かし、フタルイミド (0.110g, 0.75mmol) およびトリエチルアミン (0.35mL, 2.5mmol) を加え室温で10時間攪拌した。さらに1:1水-ピリジン溶液 (2mL) を加え1時間攪拌した。反応溶液を上述の方法と同様にして抽出処理した後、精製して2',3',5'-Tri-O-acetylcytidine (8) を96% (0.177g, 0.479mmol) の収率で得た。

【0097】<sup>1</sup>H-n.m.r. (CDCl<sub>3</sub>): δ 2.10 (s, 6H, COCH<sub>3</sub> x 2), 2.13 (s, 3H, COCH<sub>3</sub>), 4.32-4.38 (m, 3H, H-4', 5' and 5''), 5.36 (t, 1H, J<sub>3',4'</sub> = J<sub>4',5'</sub> = 5.56Hz, H-3'), 5.42 (dd, 1H, J<sub>2',3'</sub> = 4.33Hz, H-2'), 5.99 (d, 1H, H-1'), 6.02 (d, 1H, J<sub>6,7</sub> = 7.64Hz, H-5), 7.50 (d, 1H, H-6).

元素分析 (C<sub>13</sub>H<sub>14</sub>N<sub>6</sub>O<sub>8</sub>, 0.1H<sub>2</sub>O)

Calcd.: C, 48.54; H, 5.21; N, 11.32.

Found: C, 48.46; H, 4.99; N, 11.38.

## 実施例3

(N<sup>4</sup>-アセチル-2',3',5'-トリ-O-アセチルシチジンの合成) 製造例3で得た4-(3-Nitro-1,2,4-triazol-1-yl)-1-(2',3',5'-tri-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)pyrimidin-2(1H)-one (3-NT) (0.233g, 0.5mmol) を塩化メチレン (1.25mL) に溶かし、フタルイミド (0.110g, 0.75mmol) およびトリエチルアミン (0.35mL, 2.5mmol) を加え室温で10時間攪拌した。さらに1:1水-ピリジン溶液 (2mL) を加え1時間攪拌した。反応溶液を上述の方法と同様にして抽出処理し、有機層を減圧下濃縮した。残留物をピリジン (2mL x 3) で共沸脱水した後、ピリジン (4mL) に溶かし、さらに無水酢酸 (2mL, 21.5mmol) を加え室温で3時間攪拌した。反応溶液を減圧下濃縮し、残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製してN<sup>4</sup>-Acetyl-2',3',5'-tri-O-acetylcytidine を95% (0.196g, 0.476mmol) の収率で得た。

【0098】<sup>1</sup>H-n.m.r. (CDCl<sub>3</sub>): δ 2.10, 2.12, 2.16 and 2.27 (4s, 12H, COCH<sub>3</sub> x 4), 4.39-4.44 (m, 3H, H-4', 5' and 5''), 5.32 (t, 1H, J<sub>3',4'</sub> = J<sub>4',5'</sub> = 5.48Hz, H-3'), 5.42 (dd, 1H, J<sub>2',3'</sub> = 4.14Hz, H-2'), 6.11 (d, 1H, H-1'), 7.47 (d, 1H, J<sub>6,7</sub> = 7.62Hz, H-5), 7.91 (d, 1H, H-6), 9.18 (brs, 1H, N<sup>1</sup>-H).

## 製造例4

(3',5'-ジ-O-ベンゾイル-2'-O-(テトラヒドロピラン-2-イル)ウリジン(ジアステレオアイソマー混合物)(10)の合成) 3',5'-Di-O-benzoyluridine (9) (2.715g, 6mmol) を1,4-ジオキサン (24mL) に溶かしp-トルエンスルホン酸一水和物 (0.228g, 1.2mmol) およびジヒドロピラン (4.1mL, 45mmol) を加え室温で1時間攪拌した。反応溶液に5% 炭酸ナトリウム水溶液を加え中和して反応を停止した後、塩化メチレン (100mL) を加え、水 (50mL x 2) で洗浄した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥後、硫酸マグネシウムを濾別除去し、減圧下濃縮した。残留物にメタノール (15mL) を加え加熱溶解し、放置した。生成した結晶を濾別分取して3',5'-Di-O-benzoyl-2'-O-(tetrahydropyran-2-yl)uridine (ジアステレオアイソマー混合物) (10) を93% (3.004g, 5.60mmol) の収率で得た。

【0099】<sup>1</sup>H-n.m.r. (CDCl<sub>3</sub>): δ 1.40-1.75 (m, 6H, CCH<sub>3</sub>, C x 3), 3.35-3.50 and 3.56-3.70 (2m, 2H, OCH<sub>2</sub>, C), 4.50-4.93 (m, 4H, H-4', 5', 5'' and OCH<sub>2</sub> (O)), 5.50-5.63 (m, 2H, H-2' and 3'), 6.11 and 6.13 (2d, 1H, J<sub>2',3'</sub> = 3.84 and 5.88Hz, H-1'), 7.34-7.65 and 8.03-8.12 (2m, 12H, H-5, 6 and Ph-H), 8.76 and 8.80 (2brs, 1H, N<sup>1</sup>-H). (\* K. Kamaike, Y. Hasegawa and Y. Ishido, Nucleosides & Nucleotides, 7, 37-43 (1988). を参照)

## 製造例5

(4-テトラゾリル-1-[3',5'-ジ-O-ベンゾイル-2'-O-

(テトラヒドロピラン-2-イル)- $\beta$ -D-リボフラノシル  
]ピリミジン-2(1H)-オン(ジアステレオアイソマー混  
合物)(11-Te)の合成)製造例4で得た3',5'-Di-Q-  
-benzoyl-2'-Q-(tetrahydropyran-2-yl)uridine(ジア  
ステレオアイソマー混合物)(10)(3.004g, 5.60mmol)  
をピリジン(8mL x 3)で共沸脱水した後、ピリジン(14m  
L)に溶かし、さらに1H-テトラゾール(0.785g, 11.2m  
mol), リン酸ジフェニル(1.681g, 6.72mmol)および  
塩化p-トルエンスルホン(0.785, 11.2mmol)を加え  
室温で8時間攪拌した。反応溶液に水(5mL)を加え反応  
を停止した後、塩化メチレン(100mL)を加え、5%炭酸  
水素ナトリウム水溶液(50mL x 2)および水(50mL)で  
洗浄した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥後、硫  
酸マグネシウムを濾別除去し、減圧下濃縮した。残留物  
をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製して4-Te  
trazolyl-1-[3',5'-di-Q-benzoyl-2'-Q-(tetrahydro  
pyran-2-yl)- $\beta$ -D-ribofuranosyl]pyrimidin-2(1H)-o  
ne(ジアステレオアイソマー混合物)(11-Te)を84  
%(2.762g, 4.69mmol)の収率で得た。

[O 1 0 0] <sup>1</sup>H-n.m.r. (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  1.40-1.80 (m, 6  
H, CCH<sub>2</sub>, C x 3), 3.26-3.33, 3.45-3.60 and 3.76-3.8  
3 (3m, 2H, OC H<sub>2</sub>, C), 4.66-4.95 and 5.10-5.14 (2m,  
5H, H-2', 4', 5', 5" and OC H<sub>2</sub>(O)C), 5.38(dd, 1H, J=  
5.44 and 8.02Hz, H-3'), 5.57 (t, J<sub>2,3</sub> = J<sub>3,4</sub> =  
5.91Hz, H-3'), 6.10 and 6.28 (2d, 1H, J<sub>1,2</sub> = 1.44  
and 3.63Hz, H-1'), 6.95 and 7.00 (2d, 1H, J<sub>5,6</sub> =  
7.23Hz, H-5), 7.45-7.68 and 8.04-8.08 (2m, 10H, Ph  
-H), 8.31 and 8.53 (2d, 1H, H-6), 9.60 (s, 1H, N=C  
H-N of tetrazolyl moiety).

元素分析 (C<sub>28</sub>H<sub>28</sub>N<sub>8</sub>O<sub>8</sub> 0.7H<sub>2</sub>O)

Calcd.: C, 58.82; H, 4.80; N, 14.19.

Found: C, 58.84; H, 4.62; N, 14.28.

#### 実施例4

(3',5'-ジ-0-ベンゾイル-N'-スクシニル-2'-Q-  
(テトラヒドロピラン-2-イル)シチジン(ジアステレ  
オアイソマー混合物)(12)の合成)

#### 合成法1)

製造例4で得た4-Tetrazolyl-1-[3',5'-di-Q-benzoyl  
-2'-Q-(tetrahydropyran-2-yl)- $\beta$ -D-ribofuranosy  
l]pyrimidin-2(1H)-one(ジアステレオアイソマー混  
合物)(10)を(0.294g, 0.5mmol)を塩化メチレン(2.  
5mL)に溶かし、スクシンイミド(0.099g, 1mmol)および  
トリエチルアミン(0.35mL, 2.5mmol)を加え室温で3日  
間攪拌した。さらに無水酢酸(0.093mL, 1mmol)および  
トリエチルアミン(0.28mL, 2mmol)を加え1時間攪拌し  
た後、反応溶液を減圧下濃縮した。残留物を塩化メチレ  
ン(30mL)に溶かし、5%炭酸水素ナトリウム水溶液  
(15mL x 2)および水(15mL)で洗浄した。有機層を無水  
硫酸マグネシウムで乾燥後、硫酸マグネシウムを濾別除  
去し、減圧下濃縮した。残留物をシリカゲルカラムクロ

マトグラフィーで精製して3',5'-Di-Q-benzoyl-N'-  
-succinyl-2'-Q-(tetrahydro-pyran-2-yl)cytidine  
(ジアステレオアイソマー混合物)(12)を81%(0.251g,  
0.406mmol)の収率で得た。

#### [O 1 0 1] 合成法2)

製造例4で得た4-Tetrazolyl-1-[3',5'-di-Q-benzoyl  
-2'-Q-(tetrahydropyran-2-yl)- $\beta$ -D-ribofuranosy  
l]pyrimidin-2(1H)-one(ジアステレオアイソマー混  
合物)(10)(0.294g, 0.5mmol)を塩化メチレン(2.5mL)に  
溶かし、スクシンイミド(0.074g, 0.75mmol)およびD  
BU(0.09mL, 0.6mmol)を加え室温で2時間攪拌した。さ  
らに無水酢酸(0.093mL, 1mmol)およびトリエチルアミ  
ン(0.28mL, 2mmol)を加え1時間攪拌した。反応溶液を  
上述の方法と同様にして抽出処理した後、精製して3',  
5'-Di-Q-benzoyl-N'-succinyl-2'-Q-(tetrahydr  
opyran-2-yl)cytidine(ジアステレオアイソマー混  
合物)(12)を79%(0.243g, 0.393mmol)の収率で得  
た。

[O 1 0 2] <sup>1</sup>H-n.m.r. (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  1.40-1.80 (m, 6  
H, CCH<sub>2</sub>, C x 3), 2.87 (s, 4H, (C H<sub>2</sub> CO): N), 3.20  
-3.30, 3.43-3.56 and 3.68-3.78 (3m, 2H, OC H<sub>2</sub>,  
C), 4.66-4.95 and 5.10-5.14 (2m, 5H, H-2', 4', 5', 5"  
and OCH<sub>2</sub>(O)C), 5.43 (dd, 1H, J=5.73 and 8.40Hz,  
H-3'), 5.58 (t, J<sub>2,3</sub> = J<sub>3,4</sub> = 6.05Hz, H-3'), 6.05  
(s, H-1'), 6.23 (d, J<sub>1,2</sub> = 3.63Hz, H-1'), 6.29  
and 6.32 (2d, 1H, J<sub>5,6</sub> = 7.17Hz, H-5), 7.42-7.62 and  
8.01-8.04 (2m, 10H, Ph-H), 8.10 and 8.34 (2d, 1  
H, H-6).

元素分析 (C<sub>28</sub>H<sub>28</sub>N<sub>8</sub>O<sub>8</sub> 0.7H<sub>2</sub>O)

Calcd.: C, 60.99; H, 5.18; N, 6.67.

Found: C, 61.02; H, 5.31; N, 6.65.

#### 実施例5

(3',5'-ジ-0-ベンゾイル-2'-Q-(テトラヒドロピラン  
-2-イル)シチジン(ジアステレオアイソマー混合物)  
(16)の合成)

#### 合成法1)

製造例5で得た4-Tetrazolyl-1-[3',5'-di-Q-benzoyl  
-2'-Q-(tetrahydropyran-2-yl)- $\beta$ -D-ribofuranosy  
l]pyrimidin-2(1H)-one(ジアステレオアイソマー混  
合物)(11-Te)(0.294g, 0.5mmol)を塩化メチレン(2.5m  
L)に溶かし、フタルイミド(0.110g, 0.75mmol)および  
トリエチルアミン(0.35mL, 2.5mmol)を加え室温で1日  
間攪拌した。さらに1:1水-ピリジン溶液(2mL)を加  
え1時間攪拌した後、反応溶液を減圧下濃縮した。残留  
物を塩化メチレン(30mL)に溶かし、5%炭酸水素ナト  
リウム水溶液(15mL x 2)および水(15mL)で洗浄し  
た。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥後、硫酸マグ  
ネシウムを濾別除去し、減圧下濃縮した。残留物をシリ  
カゲルカラムクロマトグラフィーで精製して3',5'-Di-  
Q-benzoyl-2'-Q-(tetrahydropyran-2-yl)cytidine (

ジアステレオアイソマー混合物) (16) を 96 % (0.256 g, 0.478mmol) の収率で得た。

#### 【0103】合成法2)

製造例5で得た4-Tetrazolyl-1-[3',5'-di-0-benzoyl-2'-0-(tetrahydropyran-2-yl)-β-D-ribofuranosyl]pyrimidin-2(1H)-one (ジアステレオアイソマー混合物) (11-Te) (0.294g, 0.5mmol) を塩化メチレン (2.5mL) に溶かし、フタルイミド (0.110g, 0.75mmol) および DBU (0.09mL, 0.6mmol) を加え室温で30分間攪拌した。さらに1:1水-ピリジン溶液 (2mL) を加え1時間攪拌した。反応溶液を上述の方法と同様にして抽出処理した後、精製して3',5'-Di-0-benzoyl-2'-0-(tetrahydropyran-2-yl)cytidine (ジアステレオアイソマー混合物) (16) を 83 % (0.256g, 0.415mmol) の収率で得た。

【0104】<sup>1</sup>H-n.m.r. (CDCl<sub>3</sub>): δ 1.36-1.75 (m, 6H, CCH<sub>3</sub>; C x 3), 3.28-3.45 and 3.55-3.70 (2m, 2H, OCH<sub>2</sub>; C), 4.56-4.81 and 4.99-5.03 (2m, 5H, H-2', 4', 5', 5" and OCH<sub>2</sub>(O)C), 5.46 (dd, 1H, J = 5.73 and 7.16 Hz, H-3'), 5.62 (t, J<sub>1,2</sub> = J<sub>2,3</sub> = 5.39 Hz, H-3'), 5.72 and 5.82 (2d, 1H, J<sub>1,2</sub> = 7.47 Hz, H-5), 6.09 and 6.11 (2d, J<sub>1,2</sub> = 4.95 and 3.00 Hz, H-1'), 7.40-7.64 and 8.02-8.10 (2m, 11H, H-6 and Ph-H<sub>2</sub>). 元素分析 (C<sub>24</sub>H<sub>22</sub>N<sub>6</sub>O<sub>8</sub>; 0.2H<sub>2</sub>O) Calcd.: C, 62.37; H, 5.50; N, 7.79.

Found: C, 62.37; H, 5.25; N, 7.91.

#### 参考例1

(N<sup>4</sup>-ベンゾイル-2'-0-(テトラヒドロピラン-2-イル)シチジン (18) の合成) 実施例5で得た3',5'-Di-0-benzoyl-2'-0-(tetrahydropyran-2-yl)cytidine (ジアステレオアイソマー混合物) (16) (0.319g, 0.596mmol) ピリジン (2mL x 3) で共沸脱水した後、ピリジン (3mL) に溶かし、塩化ベンゾイル (0.1mL, 0.9mmol) を加え室温で30分間攪拌した。水 (1mL) を加え反応を停止した後、塩化メチレン (30mL) を加え、5%炭酸水素ナトリウム水溶液 (15mL x 2) および水 (15mL) で洗浄した。有機層を減圧下濃縮した後、残留物を1:2ピリジン-エタノール溶液 (6mL) に溶かし、0℃に冷却下2M水酸化ナトリウム水溶液 (0.9mL) を加え15分間攪拌した。反応溶液に1M塩酸を加えて中和した後、塩化メチレン (30mL) を加え、水 (15mL)、5%炭酸水素ナトリウム水溶液 (15mL) および水 (15mL) で洗浄した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥後、硫酸マグネシウムを濾別除去し、減圧下濃縮した。残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製して N<sup>4</sup>-Benzoyl-2'-0-(tetrahydropyran-2-yl)cytidine (18) を 82 % (極性が小さい方のジアステレオアイソマー: 0.068g, 0.158mmol; 極性が大きい方のジアステレオアイソマー: 0.142g, 0.329mmol) の収率で得た。

【0105】<sup>1</sup>H-n.m.r. (CDCl<sub>3</sub>): δ (極性が小さい方

のジアステレオアイソマー) 1.40-1.60 and 1.73-1.86 (2m, 6H, CCH<sub>3</sub>; C x 3), 3.42-3.50 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>; C), 3.70-3.86 and 3.88-3.96 (2m, 2H, H-5' and 5"), 4.01-4.04 (m, 1H, H-4'), 4.11 (dd, 1H, J = 4.62 and 7.41 Hz, H-3'), 4.31 (m, 1H, H-2'), 4.78-4.90 (m, 1H, OCH<sub>2</sub>(O)C), 5.77 (s, 1H, H-1'), 7.40-7.54 and 7.87-7.90 (2m, 6H, H-5 and Ph-H<sub>2</sub>), 8.45 (d, 1H, J<sub>1,2</sub> = 7.62 Hz, H-6);

<sup>1</sup>H-n.m.r. (CDCl<sub>3</sub>): δ (極性が大きい方のジアステレオアイソマー) 1.42-1.86 (m, 6H, CCH<sub>3</sub>; C x 3), 3.32-3.44 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>; C), 3.75 and 3.92 (2dd, 2H, J<sub>1,2</sub> = J<sub>2,3</sub> = 2.20 Hz, J<sub>1,2</sub> = 12.53 Hz, H-5' and 5"), 4.08-4.10 (m, 1H, H-4'), 4.34 (t, 1H, J<sub>1,2</sub> = J<sub>2,3</sub> = 5.43 Hz, H-3'), 4.55 (dd, 1H, J<sub>1,2</sub> = 3.95 Hz, H-2'), 4.78-4.80 (m, 1H, OCH<sub>2</sub>(O)C), 5.88 (d, 1H, H-1'), 7.44-7.59 and 7.91-7.94 (2m, 6H, H-5 and Ph-H<sub>2</sub>), 8.17 (d, 1H, J<sub>1,2</sub> = 7.47 Hz, H-6). (\* T. Neilson and E. S. Werstiuk, *Can. J. Chem.*, **49**, 493 - 499 (1971). を参照)

#### 20 実施例6

([4-<sup>15</sup>N]-3',5'-Di-0-ベンゾイル-2'-0-(テトラヒドロピラン-2-イル)シチジン (ジアステレオアイソマー混合物) (21) の合成) 製造例5で得た4-Tetrazolyl-1-[3',5'-di-0-benzoyl-2'-0-(tetrahydropyran-2-yl)-β-D-ribofuranosyl]pyrimidin-2(1H)-one (11-Te; ジアステレオアイソマー混合物) (1.177g, 2mmol) を塩化メチレン (10mL) に溶かし、[<sup>15</sup>N]フタルイミド (0.444g, 3mmol) およびトリエチルアミン (1.4mL, 10mmol) を加え室温で1日間攪拌した。さらに1:1水-ピリジン溶液 (8mL) を加え1時間攪拌した後、反応溶液を減圧下濃縮した。残留物を塩化メチレン (50mL) に溶かし、5%炭酸水素ナトリウム水溶液 (25mL x 2) および水 (25mL) で洗浄した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥後、硫酸マグネシウムを濾別除去し、減圧下濃縮した。残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製して [4-<sup>15</sup>N]-3',5'-Di-0-benzoyl-2'-0-(tetrahydropyran-2-yl)cytidine (ジアステレオアイソマー混合物) (21) を 96 % (1.028g, 1.92mmol) の収率で得た。

【0106】<sup>1</sup>H-n.m.r. (CDCl<sub>3</sub>): δ 1.26-1.74 (m, 6H, CCH<sub>3</sub>; C x 3), 3.27-3.43 and 3.56-3.70 (2m, 2H, OCH<sub>2</sub>; C), 4.56-4.78 and 4.98-5.02 (2m, 5H, H-2', 4', 5', 5" and OCH<sub>2</sub>(O)C), 5.46 (dd, 1H, J = 5.36 and 7.16 Hz, H-3'), 5.63 (t, J<sub>1,2</sub> = J<sub>2,3</sub> = 5.36 Hz, H-3'), 5.76 and 5.87 (2d, 1H, J<sub>1,2</sub> = 7.41 Hz, H-5), 6.07 and 6.11 (2d, J<sub>1,2</sub> = 4.89 and 2.82 Hz, H-1'), 7.39-7.63 and 8.02-8.10 (2m, 11H, H-6 and Ph-H<sub>2</sub>).

#### 参考例2

([4-<sup>15</sup>N]-N<sup>4</sup>-ベンゾイル-2'-0-(テトラヒドロピラン-2-イル)シチジン (23) の合成) 実施例6で得た[4

-  $^{15}\text{N}$ ]-3',5'-Di-O-benzoyl-2'-O-(tetrahydropyran-2-yl)cytidine (ジアステレオアイソマー混合物) (21) (1.028g, 1.92mmol) をピリジン (3mL x 3) で共沸脱水した後、ピリジン (9.6mL) に溶かし、塩化ベンゾイル 0.333mL, 2.88mmol) を加え室温で 30 分間攪拌した。水 (2mL) を加え反応を停止した後、塩化メチレン (40mL) で抽出し、さらに 5% 炭酸水素ナトリウム水溶液 (20mL x 2) および水 (20mL) で洗浄した。有機層を減圧下濃縮した後、残留物を 1 : 2 ピリジン-エタノール溶液 (9.6mL) に溶かし、0 °C に冷却下 2 M 水酸化ナトリウム水溶液 (2.88mL) を加え 15 分間攪拌した。反応溶液に 1M 塩酸を加えて中和した後、塩化メチレン (30mL) を加え、水 (15mL)、5% 炭酸水素ナトリウム水溶液 (15mL) および水 (15mL) で洗浄した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥後、硫酸マグネシウムを濾別除去し、減圧下濃縮した。残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製して [4- $^{15}\text{N}$ ]-N<sup>4</sup>-Benzoyl-2'-O-(tetrahydropyran-2-yl)cytidine (23) を 80.5% (極性が小さい方のジアステレオアイソマー : 0.204g, 0.472mmol ; 極性が大きい方のジアステレオアイソマー : 0.464g, 1.073mmol) の収率で得た。

【0107】 $^1\text{H}$ -n.m.r. (CDCl<sub>3</sub>) :  $\delta$  (極性が小さい方のジアステレオアイソマー) 1.45-1.60 and 1.80-1.90 (2m, 6H, CCH<sub>2</sub>, C x 3), 3.46-3.55 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>, C), 3.80 and 4.00 (2dd, 2H, J<sub>4,5</sub> = J<sub>5,6</sub> = 1.92 Hz, J<sub>5,6</sub> = 12.73 Hz, H-5' and 5"), 4.08-4.11 (m, 1H, H-4'), 4.19 (dd, 1H, J<sub>2,3</sub> = 4.90 Hz, J<sub>3,4</sub> = 6.60 Hz, H-3'), 4.43 (dd, 1H, J<sub>1,2</sub> = 2.71 Hz, H-2'), 4.78-4.90 (m, 1H, OCH<sub>2</sub>(O)C), 5.77 (d, 1H, H-1'), 7.45-7.59 and 7.92-7.95 (2m, 6H, H-5 and Ph-H), 8.40 (d, 1H, J<sub>6,7</sub> = 7.62 Hz, H-6);

低分解能 FAB マススペクトル, m/z 433.2 (M+H)<sup>+</sup>.

$^1\text{H}$ -n.m.r. (CDCl<sub>3</sub>) :  $\delta$  (極性が大きい方のジアステレオアイソマー) 1.45-1.86 (m, 6H, CCH<sub>2</sub>, C x 3), 3.38-3.48 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>, C), 3.77 and 3.95 (2dd, 2H, J<sub>4,5</sub> = J<sub>5,6</sub> = 2.23 Hz, J<sub>5,6</sub> = 12.42 Hz, H-5' and 5"), 4.12-4.14 (m, 1H, H-4'), 4.41 (t, 1H, J<sub>2,3</sub> = J<sub>3,4</sub> = 5.22 Hz, H-3'), 4.67 (dd, 1H, J<sub>1,2</sub> = 4.32 Hz, H-2'), 4.74-4.77 (m, 1H, OCH<sub>2</sub>(O)C), 5.82 (d, 1H, H-1'), 7.46-7.61 and 7.94-7.97 (2m, 6H, H-5 and Ph-H), 8.08 (d, 1H, J<sub>6,7</sub> = 7.41 Hz, H-6).

低分解能 FAB マススペクトル, m/z 433.4 (M+H)<sup>+</sup>.

### 参考例 3

([4- $^{15}\text{N}$ ]シチジンの合成) 参考例 2 で得た [4- $^{15}\text{N}$ ]-N<sup>4</sup>-Benzoyl-2'-O-(tetrahydropyran-2-yl)cytidine (23) (0.254g, 0.473mmol) を濃アンモニア水 (5mL)-ピリジン (5mL) 溶液に溶かし室温で 1 日間攪拌した。反

応溶液を減圧下濃縮し、残留物を pH 2 塩酸 (4mL) に溶かし室温で 6 時間攪拌した。さらにトリエチルアミンを少量加え反応溶液を中和した後、減圧下濃縮し、残留物を水 (10mL) に溶かし、エーテル (10mL x 3) で洗浄した。水層を減圧下濃縮し、残留物を 1 : 5 水-メタノール溶液 (1mL) に加熱溶解し、放置した。生成した結晶を濾別分取し [4- $^{15}\text{N}$ ]cytidine を 30% (0.035g, 0.143mmol) の収率で得た。

【0108】mp 210 - 212°C (1 : 5 H<sub>2</sub>O - CH<sub>3</sub>OH).

$^1\text{H}$ -n.m.r. (DMSO-d<sub>6</sub>) :  $\delta$  3.51-3.56 and 3.62-3.67 (2m, 2H, H-5' and 5"), 3.80-3.82 (m, 1H, H-4'), 3.90-3.95 (m, 2H, H-2' and 3'), 4.94 (d, 1H, J = 5.06 Hz, 3'-O H), 5.01 (t, 1H, J = 5.21 Hz, 5'-OH), 5.24 (d, 1H, J = 5.11 Hz, 2'-O H), 5.70 (d, 1H, J<sub>6,7</sub> = 7.42 Hz, H-5), 5.76 (d, 1H, J<sub>1,2</sub> = 3.76 Hz, H-1'), 7.11 (brdd, 2H, J = 28.17 Hz, J<sub>6,7</sub> = 89.60 Hz,  $^{15}\text{N}$ -H<sup>2</sup>), 7.83 (d, 1H, H-6).

$^{15}\text{N}$ -n.m.r. (DMSO-d<sub>6</sub>) :  $\delta$  92.32 (N<sup>4</sup>).

低分解能 FAB マススペクトル, m/z 245.1 (M+H)<sup>+</sup>.

### 製造例 6

(2',3',5'-トリ-O-アセチルイノシン (25) の合成) inosine (5.365g, 20mmol) (24) をピリジン (20mL x 3) で共沸脱水した後、ピリジン (100mL) に溶かし、さらに無水酢酸 (34mL, 360mmol) を加え室温で 12 時間攪拌した。反応溶液を減圧下濃縮し、残留結晶に n-ヘキサン (50mL) を加え洗浄し、濾別分取して 2',3',5'-Tri-O-acetylinosine (25) を 99% (7.808g, 19.8mmol) の収率で得た。

【0109】 $^1\text{H}$ -n.m.r. (CDCl<sub>3</sub>) :  $\delta$  2.10, 2.15 and 2.16 (3s, 9H, COC H<sub>3</sub>, x 3), 4.35-4.50 (m, 3H, H-4', 5' and 5"), 5.61 (t, 1H, H-3'), 5.88 (t, 1H, H-2'), 6.16 (d, 1H, J<sub>1,2</sub> = 5.22 Hz, H-1'), 8.01 (s, 1H, H-2), 8.24 (m, 1H, H-8).

### 製造例 7

(6-(3-ニトロ-1,2,4-トリアゾール-1-イル)-9-(2',3',5'-トリ-O-アセチル- $\beta$ -D-リボフラノシル)-9H-プリン (26-NT) の合成)

#### 合成法 1)

2',3',5'-Tri-O-acetylinosine (25) (1.972g, 5mmol) をピリジン (10mL x 3) で共沸脱水した後、ピリジン (25mL) に溶かし、さらに 3-ニトロ-1,2,4-トリアゾール (1.369, 12mmol), リン酸ジフェニル (1.501g, 6mmol) および塩化p-トルエンスルホン (1.907g, 12mmol) を加え室温で 7 日間攪拌した。反応溶液を上述の方法と同様にして抽出処理した後、精製して 6-(3-Nitro-1,2,4-triazol-1-yl)-9-(2',3',5'-tri-O-acetyl- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-9H-purine (26-NT) を 84% (2.060g, 4.20mmol) の収率で得た。



## 【 0 1 1 0 】 合成法 2)

2',3',5'-Tri-O-acetylinoine ( 25 ) ( 0.789g, 2mmol ) をピリジン ( 4mL x 3 ) で共沸脱水した後、ピリジン ( 10mL ) に溶かし、さらにメチレンスルホン-3- ニトロ-1,2,4- トリアゾリド ( 0.888, 3mmol ) およびリン酸ジフェニル ( 0.600g, 2.4mmol ) を加え室温で 5 日間攪拌した。反応溶液を上述の方法と同様にして抽出処理した後、精製して 6-(3-Nitro-1,2,4-triazol-1-yl)-9-(2',3',5'-tri-O-acetyl- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-9H-purine ( 26-NT ) を 68 % ( 0.665g, 1.356mmol ) の収率で得た。

【 0 1 1 1 】 <sup>1</sup> H-n.m.r. (CDCl<sub>3</sub> ) :  $\delta$  2.11, 2.16 and 2.19 (3s, 9H, COC H, x 3), 4.40-4.55 (m, 3H, H-4', 5' and 5"), 5.66 (t, 1H, H-3'), 5.97 (t, 1H, H-2'), 6.32 (d, 1H, J<sub>1,2</sub> = 5.01Hz, H-1'), 8.48 (s, 1H, H-2), 9.02 (s, 1H, H-8), 9.81 (s, 1H, N=C H -N of 3'-nitro-1,2,4-triazolyl moiety). (\* R.W. Adams and E. Biata, Nucleic Acids Res., 13, 2989 - 3003 (1985). を参照)

## 実施例 7

(2',3',5'-トリ -O-アセチル-N<sup>6</sup> - スクシニルアデノシン ( 28 ) の合成)

## 合成法 1)

6-(3-Nitro-1,2,4-triazol-1-yl)-9-(2',3',5'-tri-O-acetyl- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-9H-purine ( 26-NT ) ( 0.245g, 0.5mmol ) を塩化メチレン ( 1.25mL ) に溶かし、スクシンイミド ( 0.099g, 1mmol ) および DBU ( 0.225mL, 1.5mmol ) を加え室温で 2 日間攪拌した。さらに無水酢酸 ( 0.14mL, 1.5mmol ) およびトリエチルアミン ( 0.21mL, 1.5mmol ) を加え 1 時間攪拌した後、反応溶液を減圧下濃縮した。残留物を塩化メチレン ( 30mL ) に溶かし、5%炭酸水素ナトリウム水溶液 ( 15mL x 2 ) および水 ( 15mL ) で洗浄した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥後、硫酸マグネシウムを濾別除去し、減圧下濃縮した。残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製して 2',3',5'-Tri-O-acetyl-N<sup>6</sup> -succinyladenosine ( 28 ) を 60 % ( 0.143g, 0.30mmol ) の収率で得た。

## 【 0 1 1 2 】 合成法 2)

6-(3-Nitro-1,2,4-triazol-1-yl)-9-(2',3',5'-tri-O-acetyl- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-9H-purine ( 26-NT ) ( 0.245g, 0.5mmol ) を塩化メチレン ( 1.25mL ) に溶かし、スクシンイミド ( 0.099g, 1mmol ) および DBU ( 0.225mL, 1.5mmol ) を加え還流下 1 日間攪拌した。さらに無水酢酸 ( 0.14mL, 1.5mmol ) およびトリエチルアミン ( 0.21mL, 1.5mmol ) を加え 1 時間攪拌した後、反応溶液を上述の方法と同様にして抽出処理し、精製して 2',3',5'-Tri-O-acetyl-N<sup>6</sup> -succinyladenosine ( 28 ) を 55 % ( 0.131g, 0.275mmol ) の収率で得た。

【 0 1 1 3 】 <sup>1</sup> H-n.m.r. (CDCl<sub>3</sub> ) :  $\delta$  2.10, 2.13 and 2.17 (3s, 9H, COC H, x 3), 3.05 (s, 4H, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub> CO) 50

; N), 4.40-4.50 (m, 3H, H-4', 5' and 5"), 5.65 (dd, 1H, J<sub>1,2</sub> = 4.08Hz, H-3'), 5.99 (t, 1H, J<sub>1,2</sub> = J<sub>2,3</sub> = 5.60Hz, H-2'), 6.30 (d, 1H, H-1'), 8.34 (s, 1H, H-2), 9.05 (s, 1H, H-8).

元素分析 (C<sub>24</sub>H<sub>24</sub>N<sub>8</sub>O<sub>10</sub>, 0.5 H<sub>2</sub>O)

Calcd.: C, 49.59; H, 4.58; N, 14.46.

Found: C, 49.30; H, 4.34; N, 14.90.

## 実施例 8

(2',3',5'-トリ -O-アセチル-N<sup>6</sup> -フタロイルアデノシン ( 30 ) の合成)

## 合成法 1)

6-(3-Nitro-1,2,4-triazol-1-yl)-9-(2',3',5'-tri-O-acetyl- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-9H-purine ( 0.245g, 0.5mmol ) ( 26-NT ) を塩化メチレン ( 1.25mL ) に溶かし、フタルイミド ( 0.147g, 1mmol ) および DBU ( 0.225mL, 1.5mmol ) を加え室温で 1 日間攪拌した。さらに無水酢酸 ( 0.14mL, 1.5mmol ) およびトリエチルアミン ( 0.21mL, 1.5mmol ) を加え 1 時間攪拌した後、反応溶液を減圧下濃縮した。残留物を塩化メチレン ( 30mL ) に溶かし、5%炭酸水素ナトリウム水溶液 ( 15mL x 2 ) および水 ( 15mL ) で洗浄した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥後、硫酸マグネシウムを濾別除去し、減圧下濃縮した。残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製して 2',3',5'-Tri-O-acetyl-N<sup>6</sup> -phthaloyladenosine ( 30 ) を 74 % ( 0.194g, 0.371mmol ) の収率で得た。

## 【 0 1 1 4 】 合成法 2)

6-(3-Nitro-1,2,4-triazol-1-yl)-9-(2',3',5'-tri-O-acetyl- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-9H-purine ( 0.245g, 0.5mmol ) を塩化メチレン ( 1.25mL ) に溶かし、フタルイミド ( 0.147g, 1mmol ) および DBU ( 0.225mL, 1.5mmol ) を加え還流下 8 時間攪拌した。さらに室温下無水酢酸 ( 0.14mL, 1.5mmol ) およびトリエチルアミン ( 0.21mL, 1.5mmol ) を加え 1 時間攪拌した。反応溶液を上述の方法と同様にして抽出処理した後、精製して 2',3',5'-Tri-O-acetyl-N<sup>6</sup> -phthaloyladenosine ( 30 ) を 74 % ( 0.193g, 0.369mmol ) の収率で得た。

<sup>1</sup> H-n.m.r. (CDCl<sub>3</sub> ) :  $\delta$  2.10, 2.13 and 2.17 (3s, 9H, COC H, x 3), 4.40-4.55 (m, 3H, H-4', 5' and 5"), 5.68 (dd, 1H, J<sub>1,2</sub> = 4.11Hz, H-3'), 6.02 (t, 1H, J<sub>1,2</sub> = J<sub>2,3</sub> = 5.60Hz, H-2'), 6.32 (d, 1H, H-1'), 7.83-7.85 and 8.03-8.05 (2m, 4H, Ph-H), 8.33 (s, 1H, H-2), 9.08 (s, 1H, H-8).

元素分析 (C<sub>28</sub>H<sub>24</sub>N<sub>8</sub>O<sub>10</sub>, H<sub>2</sub>O)

Calcd.: C, 53.24; H, 4.28; N, 12.93.

Found: C, 53.42; H, 4.01; N, 12.65.

## 製造例 8

(3',5'-ジ-O-ベンゾイルイノシン ( 33 ) の合成 )  
inosine ( 24 ) ( 5.365 g, 20mmol ) をピリジン ( 20mL x 3 ) で共沸脱水した後、ピリジン ( 100mL ) に溶かし、さ

らに塩化ベンゾイル (8.1mL, 70mmol) を加え室温で 2 時間攪拌した。反応溶液を減圧下濃縮し、残留物を塩化メチレン (200mL) に溶かし、5%炭酸水素ナトリウム水溶液 (100mL x 2) および水 (100mL) で洗浄した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥後、硫酸マグネシウムを濾別除去し、減圧下濃縮した。残留物を 1 : 4 酢酸-ピリジン溶液 (100mL) に溶かし 80%ヒドラジン-水和物 (2.44mL, 40mmol) を加え室温で 2 日間攪拌した。アセトン (50mL) を加え室温で 1 時間攪拌し反応を停止した後、反応溶液を減圧下濃縮し、残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーでジベンゾアートを単離した。ジベンゾアートをメタノール (30mL) に溶かし放置した後、生成した結晶を濾別分取して 3',5'-Di-Q-benzoylinosine (33) を 78% (7.776g, 15.57mmol) の収率で得た。

【0115】<sup>1</sup> H-n.m.r. (CDCl<sub>3</sub>): δ 4.55-4.74 (m, 3H, H-4', 5' and 5''), 5.09 (t, 1H, J<sub>1,2</sub> = J<sub>2,3</sub> = 5.60Hz, H-2'), 5.67 (dd, 1H, J<sub>1,2</sub> = 3.87Hz, H-3'), 6.02 (d, 1H, H-1'), 7.34-7.58 (m, 7H, H-2 and Ph-H), 7.77 (s, 1H, H-8), 7.95 and 8.07 (2d, 4H, J = 7.11Hz, Ph-H). (\* J.J.Fox, I.Wempen, A.Hampton, and I.L.Doerr, J.Am.Chem.Soc., 80, 1669 - 1675 (1975). ; Y.Ishido, N.Nakazaki, and N.Sakairi, J.Chem.Soc.Perkin I, 2088 - 2098 (1979). を参照)

#### 製造例 9

(3',5'-ジ-Q-ベンゾイル-2'-0-(テトラヒドロピラン-2-イル)イノシン(ジアステレオアイソマー混合物) (34) の合成) 製造例 8 で得た 3',5'-Di-Q-benzoylinosine (33) (5.241g, 11mmol) を 1,4-ジオキサン (44mL) に溶かし p-トルエンスルホン酸-水和物 (2.092g, 11mmol) およびジヒドロピラン (9.93mL, 110mmol) を加え室温で 1 時間攪拌した。反応溶液に 5%炭酸水素ナトリウム水溶液を加え中和して反応を停止した後、塩化メチレン (200mL) で抽出し、さらに水 (100mL x 2) で洗浄した。有機層を減圧下濃縮し、残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製して 3',5'-Di-Q-benzoyl-2'-Q-(tetrahydropyran-2-yl)inosine (ジアステレオアイソマー混合物) (34) を 88% (5.146g, 9.18mmol) の収率で得た。

【0116】<sup>1</sup> H-n.m.r. (CDCl<sub>3</sub>): δ 1.29-1.70 (m, 6H, CCH<sub>3</sub>, C x 3), 3.36-3.41 and 3.67-3.75 (2m, 2H, OCH<sub>3</sub>, C), 4.62-4.83 (m, 4H, H-4', 5', 5'' and OCH<sub>3</sub>(O)C), 5.27-5.33 (m, 1H, H-2'), 5.81 and 5.85 (2dd, 1H, J<sub>1,2</sub> = 5.50Hz, J<sub>2,3</sub> = 3.70Hz, H-3'), 6.20 (d, 1H, J<sub>1,2</sub> = 6.03Hz, H-1'), 7.27-7.65 (m, 12H, Ph-H), 7.97-8.16 (m, 6H, H-2, H-8 and Ph-H), 13.07 (brs, 1H, N'-H).

元素分析 (C<sub>27</sub>H<sub>34</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub> · 1.2H<sub>2</sub>O)

Calcd.: C, 59.83; H, 5.26; N, 9.62.

Found: C, 59.60; H, 4.92; N, 9.46.

#### 製造例 10

(6-(3-ニトロ-1,2,4-トリアゾール-1-イル)-9-[3',5'-di-0-ベンゾイル-2'-0-(テトラヒドロピラン-2-イル)-β-D-リボフラノシル]-9H-プリン(ジアステレオアイソマー混合物) (35-NT) の合成) 製造例 9 で得た 3',5'-Di-Q-benzoyl-2'-Q-(tetrahydropyran-2-yl)inosine (ジアステレオアイソマー混合物) (34) (2.803g, 5mmol) をピリジン (8mL x 3) で共沸脱水した後、ピリジン (25mL) に溶かし、さらに 3-ニトロ-1,2,4-トリアゾール (1.141g, 10mmol), リン酸ジフェニル (1.501g, 6mmol) および塩化 p-トルエンスルホン (1.907g, 10mmol) を加え室温で 7 日間攪拌した。反応溶液を上述の方法と同様にして抽出処理した後、精製して 6-(3-Nitro-1,2,4-triazol-1-yl)-9-[3',5'-di-Q-benzoyl-2'-Q-(tetrahydropyran-2-yl)-β-D-ribofuranosyl]-9H-purine (ジアステレオアイソマー混合物) (35-NT) を 79% (2.425g, 3.69mmol) の収率で得た。

【0117】<sup>1</sup> H-n.m.r. (CDCl<sub>3</sub>): δ 1.30-1.70 (m, 6H, CCH<sub>3</sub>, C x 3), 3.14-3.22, 3.30-3.45 and 3.67-3.76 (3m, 2H, OCH<sub>3</sub>, C), 4.61-4.90 (m, 4H, H-4', 5', 5'' and OCH<sub>3</sub>(O)C), 5.41 and 5.48 (2t, 1H, J<sub>1,2</sub> = J<sub>2,3</sub> = 5.70 and 5.50Hz, H-2'), 5.87 and 5.92 (2d, 1H, J<sub>1,2</sub> = 5.50Hz, J<sub>2,3</sub> = 4.30Hz, H-3'), 6.35 and 6.36 (2d, 1H, J<sub>1,2</sub> = 5.70 and 5.50Hz, H-1'), 7.44-7.68 (m, 6H, Ph-H), 8.06-8.18 (m, 4H, Ph-H), 8.42 and 8.46 (2s, 1H, H-2), 8.77 and 8.80 (2s, 1H, H-8), 9.78 (s, 1H, N=C-H of 3-nitro-1,2,4-triazolyl moiety).

元素分析 (C<sub>31</sub>H<sub>30</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub> · 0.3H<sub>2</sub>O)

Calcd.: C, 56.24; H, 4.35; N, 16.93.

Found: C, 56.25; H, 4.17; N, 16.95.

#### 実施例 9

(3',5'-Di-Q-ベンゾイル-N'-スクシニル-2'-0-(テトラヒドロピラン-2-イル)アデノシン(ジアステレオアイソマー混合物) (36) の合成) 製造例 10 で得た 6-(3-Nitro-1,2,4-triazol-1-yl)-9-[3',5'-di-Q-benzoyl-2'-Q-(tetrahydropyran-2-yl)-β-D-ribofuranosyl]-9H-purine (diastereoisomer mixture) (35-NT) (0.328g, 0.5mmol) を塩化メチレン (1.25mL) に溶かし、スクシニミド (0.099g, 1mmol) および DBU (0.225mL, 1.5mmol) を加え室温で 1 日間攪拌した。さらに無水酢酸 (0.19mL, 2mmol) およびトリエチルアミン (0.28mL, 2mmol) を加え 1 時間攪拌した後、反応溶液を減圧下濃縮した。残留物を塩化メチレン (30mL) に溶かし、5%炭酸水素ナトリウム水溶液 (15mL x 2) および水 (15mL) で洗浄した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥後、硫酸マグネシウムを濾別除去し、減圧下濃縮した。残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製して 3',5'-Di-Q-benzoyl-N'-succinyl-2'-Q-(tetrahydropyran-2-yl)-adenosine (ジアステレオ

アイソマー混合物) (36) を 72% (0.231g, 0.359mmol) の収率で得た。

$^1\text{H-n.m.r. (CDCl}_3\text{)}$ :  $\delta$  1.30-1.70 (m, 6H,  $\text{CCH}_2$ , C x 3), 3.05 (s, 4H, ( $\text{C H}_2$ , CO) : N), 3.15-3.34, 3.38-3.47 and 3.70-3.78 (3m, 2H,  $\text{OCH}_2$ , C), 4.59-4.85 (m, 4H, H-4', 5', 5" and  $\text{OC H}_2$ (O)C), 5.38 and 5.53 (2t, 1H,  $J_{1,2} = J_{2,3} = 6.00\text{Hz}$ , H-2'), 5.86 and 5.91 (2dd, 1H,  $J_{1,2} = 3.33$  and  $3.98\text{Hz}$ , H-3'), 6.31 (d, 1H, H-1'), 7.41-7.65 (m, 6H, Ph-H), 8.04-8.16 (m, 4H, H-2, Ph-H), 8.34 and 8.36 (2s, 1H, H-2), 8.80 and 8.89 (2s, 1H, H-8)

元素分析 ( $\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{O}$ , 1.5H; 0)  
 Calcd.: C, 59.28; H, 5.12; N, 10.47.  
 Found: C, 59.19; H, 4.87; N, 10.39.

#### 参考例 4

( $\text{N}^6$  - スクシニル-2'- $\text{O}$ -(テトラヒドロピラン-2-イル) アデノシン) の合成 実施例 9 で得た 3', 5'-Di- $\text{O}$ -benzoyl- $\text{N}^6$ -succinyl-2'- $\text{O}$ -(tetrahydropyran-2-yl)adenosine (36) (ジステレオアイソマー混合物) (0.231g, 0.359mmol) をピリジン (4mL) に溶かし、0℃に冷却下 2 M 水酸化ナトリウム水溶液 (3mL) を加え 30 分間攪拌した。反応溶液に Dowex 50Wx8 (H form) を加えて中和した後、Dowex 50Wx8 を濾別除去し、濾液を減圧下濃縮した。残留物をピリジン (2mL x 3) で共沸脱水した後、ピリジン (1mL) に溶かし、さらにトリフロロ酢酸無水物 (0.254 mL, 1.79mmol) を加え室温で 30 分間攪拌した。反応溶液に水 (1mL) を加えて反応を停止した後、塩化メチレン (30mL) を加え、水 (15mL)、5% 炭酸水素ナトリウム水溶液 (15mL) および水 (15mL) で洗浄した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥後、硫酸マグネシウムを濾別除去し、減圧下濃縮した。残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製して  $\text{N}^6$ -succinyl-2'- $\text{O}$ -(tetrahydropyran-2-yl)adenosine を 62% (極性が小さい方のジステレオアイソマー: 0.049g, 0.113mmol; 極性が大きい方のジステレオアイソマー: 0.049g, 0.113mmol) の収率で得た。

$^1\text{H-n.m.r. (CDCl}_3\text{)}$ :  $\delta$  (極性が小さい方のジステレオアイソマー) 1.39-1.81 (m, 6H,  $\text{CCH}_2$ , C x 3), 3.43-3.50 and 3.75-3.79 (2m, 2H,  $\text{OCH}_2$ , C), 3.94-4.01 (m, 2H, H-5' and 5"), 4.35-4.55 (m, 2H, H-4' and  $\text{OC H}_2$ (O)C), 4.54 (t, 1H,  $J_{1,2} = J_{2,3} = 4.68\text{Hz}$ , H-2'), 4.86 (dd, 1H,  $J_{1,2} = 7.47\text{Hz}$ , H-2'), 5.77 (d, 1H, H-1'), 8.24 (s, 1H, H-2), 9.01 (s, 1H, H-8);

$^1\text{H-n.m.r. (CDCl}_3\text{)}$ :  $\delta$  (極性が大きい方のジステレオアイソマー) 1.24-1.72 (m, 6H,  $\text{CCH}_2$ , C x 3), 2.89-2.95 and 3.26-3.30 (2m, 2H,  $\text{OCH}_2$ , C), 3.79 and 3.97 (2dd, 2H,  $J_{1,2} = J_{2,3} = 1.65\text{Hz}$ , H-5' and 5")

0 Hz, H-5' and 5"), 4.31-4.37 (m, 2H, H-4 and  $\text{OCH}_2$ (O)C), 4.57 (d, 1H,  $J_{1,2} = J_{2,3} = 4.98\text{Hz}$ , H-3'), 5.01 (dd, 1H,  $J_{1,2} = 6.93\text{Hz}$ , H-2'), 6.07 (d, 1H, H-1'), 8.24 (s, 1H, H-2), 8.99 (s, 1H, H-8).

#### 実施例 10

(3', 5'-ジ- $\text{O}$ -ベンゾイル- $\text{N}^6$ -フタロイル-2'- $\text{O}$ -(テトラヒドロピラン-2-イル) アデノシン (38) (ジステレオアイソマー混合物) の合成) 製造例 10 で得た 6-(3-Nitro-1,2,4-triazol-1-yl)-9-[3', 5'-di- $\text{O}$ -benzoyl-2'- $\text{O}$ -(tetrahydropyran-2-yl)- $\beta$ -D-ribofuranosyl]-9H-purine (ジステレオアイソマー混合物) (35-NT) 0.328 g, 0.5mmol) を塩化メチレン (1.25mL) に溶かし、フタルイミド (0.147g, 1mmol) および DBU (0.15mL, 1mmol) を加え室温で 1 日間攪拌した。さらに無水酢酸 (0.19mL, 2mmol) およびトリエチルアミン (0.28mL, 2mmol) を加え 1 時間攪拌した後、反応溶液を減圧下濃縮した。残留物を塩化メチレン (30mL) に溶かし、5% 炭酸水素ナトリウム水溶液 (15mL x 2) および水 (15mL) で洗浄した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥後、硫酸マグネシウムを濾別除去し、減圧下濃縮した。残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製して 3', 5'-Di- $\text{O}$ -benzoyl- $\text{N}^6$ -phthaloyl-2'- $\text{O}$ -(tetrahydropyran-2-yl)adenosine (ジステレオアイソマー混合物) (38) を 88% (0.304g, 0.440mmol) の収率で得た。

$^1\text{H-n.m.r. (CDCl}_3\text{)}$ :  $\delta$  1.30-1.70 (m, 6H,  $\text{CCH}_2$ , C x 3), 3.13-3.22, 3.25-3.34 3.38-3.46 and 3.67-3.78 (4m, 2H,  $\text{OCH}_2$ , C), 4.60-4.89 (m, 4H, H-4', 5', 5" and  $\text{OC H}_2$ (O)C), 5.43 and 5.57 (2t, 1H,  $J_{1,2} = J_{2,3} = 6.06\text{Hz}$ , H-2'), 5.89 and 5.95 (2dd, 1H,  $J_{1,2} = 3.14$  and  $3.84\text{Hz}$ , H-3'), 6.35 (d, 1H, H-1'), 7.43-7.68, 7.83-7.86 and 8.01-8.20 (3m, 14H, Ph-H), 8.31 (s, 1H, H-2), 8.85 and 8.93 (2s, 1H, H-8).

元素分析 ( $\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{O}$ )

Calcd.: C, 64.44; H, 4.53; N, 10.15.

Found: C, 64.27; H, 4.57; N, 10.02.

#### 参考例 4

( $\text{N}^6$  - フタロイル-2'- $\text{O}$ -(テトラヒドロピラン-2-イル) アデノシン (43) の合成) 実施例 10 で得た 3', 5'-Di- $\text{O}$ -benzoyl- $\text{N}^6$ -phthaloyl-2'- $\text{O}$ -(tetrahydropyran-2-yl)adenosine (38) (ジステレオアイソマー混合物) (0.304g, 0.44mmol) をピリジン (4mL) に溶かし、0℃に冷却下 2 M 水酸化ナトリウム水溶液 (3mL) を加え 15 分間攪拌した。反応溶液に Dowex 50Wx8 (H form) を加えて中和した後、Dowex 50Wx8 を濾別除去し、濾液を減圧下濃縮した。残留物をピリジン (2mL x 3) で共沸脱水した後、ピリジン (1mL) に溶かし、さらにトリフロロ酢酸無水物 (0.254mL, 1.79mmol) を加え室温で 30 分間攪拌した。反応溶液に水 (1mL) を加えて反応を停止し

た後、塩化メチレン (30mL) を加え、水 (15mL)、5%炭酸水素ナトリウム水溶液 (15mL) および水 (15mL) で洗浄した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥後、硫酸マグネシウムを濾別除去し、減圧下濃縮した。残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製して  $N^6$ -Phthaloyl-2'-O-(tetrahydropyran-2-yl)adenosine (43) を 60 % (極性が小さい方のジアステレオアイソマー: 0.050g, 0.104mmol; 極性が大きい方のジアステレオアイソマー: 0.076g, 0.158mmol) の収率で得た。

【0 1 2 1】<sup>1</sup>H-n.m.r. (CDCl<sub>3</sub>): δ (極性が小さい方のジアステレオアイソマー) 1.40-1.85 (m, 6H, CCH<sub>2</sub>, C x 3), 3.40-3.52 (m, 2H, OC H<sub>2</sub>, C), 3.95-4.05 (m, 2H, H-5' and 5"), 4.35-4.42 (m, 2H, H-4' and OC H<sub>2</sub>(O)C), 4.56 (t, 1H, J<sub>2,3</sub> = J<sub>3,4</sub> = 4.68Hz, H-3'), 4.91 (dd, 1H, J<sub>2,3</sub> = 7.68Hz, H-2'), 6.03 (d, 1H, H-1'), 7.84-7.87 and 8.00-8.05 (2m, 4H, Ph- H), 8.23 (s, 1H, H-2), 9.05 (s, 1H, H-8);

<sup>1</sup>H-n.m.r. (CDCl<sub>3</sub>): δ (極性が大きい方のジアステレオアイソマー) 1.34-1.80 (m, 6H, CCH<sub>2</sub>, C x 3), 2.93-3.00 and 3.32-3.37 (2m, 2H, OC H<sub>2</sub>, C), 3.80-3.84 and 3.99-4.04 (2m, 2H, H-5' and 5"), 4.36-4.41 (m, 2H, H-4 and OC H<sub>2</sub>(O)C), 4.61 (d, 1H, J<sub>2,3</sub> = J<sub>3,4</sub> = 4.95Hz, H-3'), 5.10 (dd, 1H, J<sub>2,3</sub> = 7.14 Hz, H-2'), 6.08 (d, 1H, H-1'), 7.84-7.87 and 8.02-8.05 (2m, 4H, Ph- H), 8.22 (s, 1H, H-2), 9.05 (s, 1H, H-8).

#### 実施例 11

([6-<sup>15</sup>N]-3',5'-Di-O-benzoyl-N<sup>6</sup>-フタロイル-2'-O-(テトラヒドロピラン-2-イル) アデノシン

(ジアステレオアイソマー混合物) (40) の合成) 製造

例 10 で得た 6-(3-Nitro-1,2,4-triazol-1-yl)-9-[3',5'-di-O-benzoyl-2'-O-(tetrahydropyran-2-yl)-β-D-ribofuranosyl]-9H-purine (diastereoisomer mixture) (35-NT) (1.313g, 2mmol) を塩化メチレン (4mL) に溶かし、[<sup>15</sup>N]フタルイミド (0.593g, 4mmol) および DBU (0.9mL, 6mmol) を加え室温で 2 日間攪拌した。

さらに無水酢酸 (0.76mL, 8mmol) およびトリエチルアミン (1.12mL, 8mmol) を加え 1 時間攪拌した後、反応溶液を減圧下濃縮した。残留物を塩化メチレン (50mL) に溶かし、5%炭酸水素ナトリウム水溶液 (25mL x 2) および水 (25mL) で洗浄した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥後、硫酸マグネシウムを濾別除去し、減圧下濃縮した。残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製して [6-<sup>15</sup>N]-3',5'-Di-O-benzoyl-N<sup>6</sup>-phthaloyl-2'-O-(tetrahydropyran-2-yl)adenosine (ジアステレオアイソマー混合物) (40) を 99.6 % (1.378g, 1.99mmol) の収率で得た。

【0 1 2 2】<sup>1</sup>H-n.m.r. (CDCl<sub>3</sub>): δ 1.30-1.74 (m, 6H, CCH<sub>2</sub>, C x 3), 3.14-3.22, 3.25-3.34 3.36-3.46 and 3.70-3.80 (4m, 2H, OC H<sub>2</sub>, C), 4.60-4.90 (m, 4H, H

-4', 5', 5" and OC H<sub>2</sub>(O)C), 5.43 and 5.57 (2t, 1H, J<sub>2,3</sub> = J<sub>3,4</sub> = 5.99Hz, H-2'), 5.89 and 5.94 (2dd, 1H, J<sub>2,3</sub> = 3.09 and 3.99Hz, H-3'), 6.35 (d, 1H, H-1'), 7.43-7.64, 7.83-7.87 and 8.01-8.19 (3m, 14H, Ph- H), 8.31 (s, 1H, H-2), 8.85 and 8.93 (2s, 1H, H-8).

#### 参考例 5

([6-<sup>15</sup>N]-N<sup>6</sup>-フタロイル-2'-O-(テトラヒドロピラン-2-イル) アデノシン (45) の合成) 実施例 11 で得た [6-<sup>15</sup>N]-3',5'-Di-O-benzoyl-N<sup>6</sup>-phthaloyl-2'-O-(tetrahydropyran-2-yl)adenosine (ジアステレオアイソマー混合物) (40) (1.378g, 1.99mmol) をピリジン (16mL) に溶かし、0℃に冷却下 2 M 水酸化ナトリウム水溶液 (10mL) を加え 15 分間攪拌した。反応溶液に Dowex 50Wx8 (H form) を加えて中和した後、Dowex 50Wx8 を濾別除去し、濾液を減圧下濃縮した。残留物をピリジン (2mL x 3) で共沸脱水した後、ピリジン (8mL) に溶かし、さらにトリフロロ酢酸無水物 1.41mL, 10mmol を加え室温で 30 分間攪拌した。反応溶液に水 (1mL) を加えて反応を停止した後、塩化メチレン (50mL) を加え、水 (25mL)、5%炭酸水素ナトリウム水溶液 (25mL) および水 (25mL) で洗浄した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥後、硫酸マグネシウムを濾別除去し、減圧下濃縮した。残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製して [6-<sup>15</sup>N]-N<sup>6</sup>-Phthaloyl-2'-O-(tetrahydropyran-2-yl)adenosine (45) を 59.5 % (極性が小さい方のジアステレオアイソマー: 0.158g, 0.327mmol; ジアステレオアイソマー混合物: 0.322g, 0.667mmol; 極性が大きい方のジアステレオアイソマー: 0.091g, 0.189mmol) の収率で得た。

【0 1 2 3】<sup>1</sup>H-n.m.r. (CDCl<sub>3</sub>): δ (極性が小さい方のジアステレオアイソマー) 1.40-1.85 (m, 6H, CCH<sub>2</sub>, C x 3), 3.40-3.53 (m, 2H, OC H<sub>2</sub>, C), 3.97-4.05 (m, 2H, H-5' and 5"), 4.37-4.42 (m, 2H, H-4' and OC H<sub>2</sub>(O)C), 4.58 (t, 1H, J<sub>2,3</sub> = J<sub>3,4</sub> = 4.68Hz, H-3'), 4.92 (dd, 1H, J<sub>2,3</sub> = 7.68Hz, H-2'), 6.03 (d, 1H, H-1'), 7.85-7.88 and 8.02-8.06 (2m, 4H, Ph- H), 8.23 (s, 1H, H-2), 9.06 (s, 1H, H-8);

低分解能 FAB マススペクトル, m/z 483.3 (M+H)<sup>+</sup>.

<sup>1</sup>H-n.m.r. (CDCl<sub>3</sub>): δ (極性が大きい方のジアステレオアイソマー) 1.34-1.80 (m, 6H, CCH<sub>2</sub>, C x 3), 2.93-2.99 and 3.32-3.37 (2m, 2H, OC H<sub>2</sub>, C), 3.79-3.84 and 3.99-4.04 (2m, 2H, H-5' and 5"), 4.36-4.40 (m, 2H, H-4 and OC H<sub>2</sub>(O)C), 4.61 (d, 1H, J<sub>2,3</sub> = J<sub>3,4</sub> = 4.95Hz, H-3'), 5.10 (dd, 1H, J<sub>2,3</sub> = 7.20 Hz, H-2'), 6.08 (d, 1H, H-1'), 7.84-7.87 and 8.01-8.05 (2m, 4H, Ph- H), 8.22 (s, 1H, H-2), 9.05 (s, 1H, H-8). 低分解能 FAB マススペクトル, m/z 483.3 (M+H)<sup>+</sup>.

## 参考例 6

([6-<sup>15</sup>N]アデノシンの合成) 参考例 5 で得た [6-<sup>15</sup>N]-N<sup>1</sup>-Phthaloyl-2'-O-(tetrahydropyran-2-yl)adenosine (45) (0.346g, 0.5mmol) を濃アンモニア水 (5mL) - ピリジン (5mL) 溶液に溶かし室温で 1 日間攪拌した。反応溶液を減圧下濃縮し、残留物を pH 2 塩酸 (4mL) に溶かし室温で 6 時間攪拌した。さらにトリエチルアミンを少量加え反応溶液を中和した後、減圧下濃縮し、残留物を水 (10mL) に溶かし、エーテル (10mL x 3) で洗浄した。水層を減圧下濃縮し、残留物を 1 : 5 水-メタノール溶液 (1mL) に加熱溶解し、放置した。生成した結晶を濾別分取し [6-<sup>15</sup>N]adenosine を 46% (0.062g, 0.231mmol) の収率で得た。

【0124】mp 226 - 228℃ (1 : 5 H<sub>2</sub>O - CH<sub>3</sub>OH)。

<sup>1</sup>H-n.m.r. (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 3.52-3.57 and 3.64-3.70 (2m, 2H, H-5' and 5"), 3.95-3.97 (m, 1H, H-4'), 4.13-4.16 (m, 2H, H-3'), 4.59-4.63 (m, 1H, H-2'), 5.15 (d, 1H, J = 4.54Hz, 3'-O H), 5.38-5.41 (t, 1H, J = 5.21Hz, 5'-OH), 5.41 (d, 1H, J = 6.24Hz, 2'-O H), 5.87 (d, 1H, J = 6.19Hz, H-1'), 7.31 (d, 2H, J = 90.07Hz, <sup>15</sup>N-<sup>1</sup>H), 8.13 (s, 1H, H-2), 8.34 (s, 1H, H-8)。

<sup>15</sup>N-n.m.r. (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 80.94 (N<sup>1</sup>)。

低分解能 FAB マススペクトル, m/z 269.1 (M+H)<sup>+</sup>。

## 【0125】

【発明の効果】上述したように本発明によれば、テトラゾリル基又はニトロトリアゾリル基が結合した複素環を有する化合物に、塩基の存在下で、スクシンイミド誘導体又はフタルイミド誘導体を導入試薬として用いて N-スクシニルまたは N-フタロイル誘導体を効率良く合成することができる。

【0126】本発明の環外アミノ基の導入法によれば、該アミノ基の導入を高収率で行なうことができるため、本発明の方法は、ヌクレオシド環外アミノ基への<sup>15</sup>N 導入法として好適に用いられる。この環外アミノ基導入法によれば、用いるラベル化合物 ([<sup>15</sup>N]スクシンイミド、[<sup>15</sup>N]フタルイミド等) が常温で固体であるため、例えばアンモニアの様な常温で気体のラベル化合物を用いる場合とは異なり、保存性および操作性に優れ、また反応に要する試薬の当量数を容易に調整することができ、反応に用いる当量数も必要最小限に留めることが可能である。したがって、本発明の方法によれば、高価なラベル化合物を効率的に用いることができるため、コストの面からも有利である。

フロントページの続き

(51) Int. Cl. <sup>5</sup>

識別記号

庁内整理番号

F I

技術表示箇所

C07H 19/067

19/073

19/167

19/173

//(C07D403/04

207:00

239:00 )

(C07D403/04

209:00

239:00 )

8615-4C

C07D239/54

Z